



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UTBM

DOMANDA NUMERO	101994900382348
Data Deposito	26/07/1994
Data Pubblicazione	26/01/1996

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

SINTESI DI GEL CHIMICI DA POLISACCARIDI POLIELETTROLITI TRAMITE GAMMA IRRADIAZIONE
--

PD 94 A 0 0 0 1 3 9

PD R 0 0 1 5 2

Fidia Advanced Biopolymers Srl
Via De' Carpenteri, 3 - BRINDISI
Partita IVA 01510440744

- 1 -

Descrizione di una domanda di brevetto per invenzione industriale dal titolo "Sintesi di gel chimici da polisaccaridi polielettroliti tramite gamma irradiazione" della Fidia Advanced Biopolymers Srl con sede in via De' Carpenteri 3, 72100 Brindisi, Italia, nella persona del suo Legale Rappresentante, Consigliere Delegato, Dr. Lanfranco Callegaro.

Inventori: Kinam Park

Annamaria Paparella

Luca Benedetti

Depositata il... 26/07/94... con N. PD94A000139

*** **

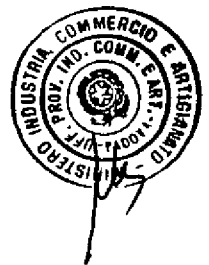
OGGETTO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione si riferisce ad un metodo di sintesi di gel chimici tramite gamma-irradiazione a partire da polisaccaridi polielettroliti quali, ad esempio, l'acido alginico, l'acido ialuronico ed i loro esteri. I gel sintetizzati con il metodo descritto possono essere utilizzati come sistemi di rilascio controllato di farmaci.

CAMPO DELL'INVENZIONE

Generalmente i gel per uso farmaceutico sono preparati da polimeri per via chimica tramite reticolazione ("cross-linking") delle catene polimeriche.

E' stato precedentemente descritto in letteratura un metodo per l'ottenimento di gel chimici tramite gamma-irradiazione a partire da polimeri solubili in acqua quali destrano e gelatina ("Preparation and



- 2 -

Characterization of Enzyme-Digestible Hydrogels from Natural Polymers by Gamma-Irradiation", K. Kamath and K. Park, ACS Symposium Series, 545, 55-65, 1994). In base alla procedura descritta nel suddetto articolo, i polimeri, funzionalizzati con glicidil acrilato al fine di introdurre doppi legami nella struttura polimerica, ed in seguito gamma irradiati, danno luogo alla formazione di gel chimici. Fino ad oggi tuttavia non é stato possibile applicare il metodo ai polisaccaridi polielettroliti. E' noto infatti che l'esposizione alla gamma-irradiazione può comportare degradazione delle catene polimeriche e conseguente perdita di viscosità ("The radiation-induced Degradation of Hyaluronic acid", D. Deeble, G. O. Phillips, E. Bothe, H. P. Schuchmann and C. von Sonntag, Radiat. Phys. Chem. vol 37, N. 1, 115-118, 1991).

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

La presente invenzione ha reso possibile la sintesi di gel chimici da polisaccaridi polielettroliti, quali l'acido alginico, l'acido ialuronico e loro derivati quali l'estere benzilico al 25% di grado di esterificazione, utilizzando definite dosi di gamma irradiazione.

La funzionalizzazione di polisaccaridi con glicidil acrilato in ambiente acquoso ed a temperatura ambiente comporta l'introduzione nella loro struttura polimerica di doppi legami. Le soluzioni dei polimeri, purificate dall'eccesso di glicidil acrilato tramite dialisi, ed in seguito gamma-irradiate, danno luogo alla formazione di gel chimici. Infatti, i

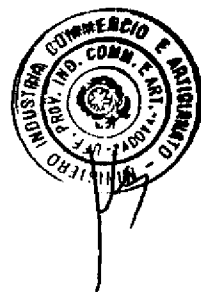


- 3 -

polimeri funzionalizzati grazie alla presenza di doppi legami, sotto effetto della radiazione assorbita, si comportano sia come macromolecole che come crosslinkanti. La formazione dei gel avviene dunque senza aggiunta di alcun agente crosslinkante esterno ed il gel ottenuto non necessita di ulteriore purificazione ("Preparation and Characterization of Enzyme-Digestible Hydrogels from Natural Polymers by Gamma-Irradiation", K. Kamath and K. Park, ACS Symposium Series, 545, 55-65, 1994).

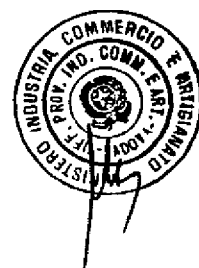
Un importante cambiamento è stato apportato al metodo di sintesi di gel tramite gamma irradiazione, descritto precedentemente per il destrano e la gelatina ("Preparation and Characterization of Enzyme-Digestible Hydrogels from Natural Polymers by Gamma-Irradiation", K. Kamath and K. Park, ACS Symposium Series, 545, 55-65, 1994). Il processo riportato nella seguente invenzione prevede l'acidificazione in un intervallo di pH opportuno delle soluzioni dei polielettroliti funzionalizzati con glicidil acrilato. In seguito ad irradiazione, le soluzioni acidificate danno luogo alla formazione di gel a concentrazioni di polimero più basse e a tempi di irradiazione più brevi.

La seguente invenzione descrive la sintesi di gel da soluzioni a diversa concentrazione, ad esempio nel range di concentrazione di 1-3% p/v di acido alginico, acido ialuronico ed esteri benzilici dell'acido ialuronico al 25% di grado di esterificazione. Le soluzioni



dei polimeri, funzionalizzati con differenti quantità di glicidil acrilato, ad esempio nel range di 0,8-1,3 ml/1g polimero, sono state in parte direttamente gamma-irradiate alla dose di 0,0606 Mrad/h per tempi variabili da 1 ad 8 ore ed in parte acidificate in un range di pH tra 2.5 e 3.5 ed in seguito gamma-irradiate nello stesso modo. L'acidificazione è stata effettuata tramite aggiunta di acido citrico senza alterare significativamente la concentrazione iniziale di polimero. I gel ottenuti posseggono la proprietà di rigonfiarsi in acqua. La caratterizzazione di alcuni dei gel sintetizzati è stata effettuata tramite misure del rapporto di rigonfiamento all'equilibrio (Q) calcolato come rapporto tra il peso del gel allo stato rigonfiato e quello allo stato secco (W. S. W. Shalaby, K. Park, Pharm. Res., 7, 816-823, 1990).

E' stato constatato che la formazione del gel dipende dalla concentrazione del polimero, dal tempo di gamma-irradiazione, dal grado di funzionalizzazione del polimero, fattore questo direttamente legato alla quantità di glicidil acrilato usata durante la reazione di funzionalizzazione, e dal pH della soluzione. Le figure 1, 2 e 3 mostrano le condizioni necessarie per la formazione di gel rispettivamente per l'acido alginico, l'acido ialuronico ed il suo estere benzilico al 25%. Le linee indicano la minima concentrazione richiesta per la formazione di gel ad un dato tempo di gamma irradiazione. L'area al di sopra delle linee rappresenta le condizioni di concentrazione e tempi di irradiazione a cui è possibile la formazione



- 5 -

del gel. Al di sotto delle linee, al contrario, non è possibile la formazione di alcun gel.

In generale è stato riscontrato che, aumentando la concentrazione di glicidil acrilato, così come la concentrazione di polimero, è possibile ottenere la formazione di gel a tempi di gamma irradiazione più bassi. Inoltre, all'aumentare del tempo di gamma irradiazione sono necessarie concentrazioni di polimero maggiori per la formazione di gel. Questo indica la tendenza dei polimeri a degradarsi sotto effetto della irradiazione.

D'altra parte è stato riscontrato che l'acidificazione delle soluzioni dei polimeri indicati comporta una più rapida formazione del gel. Soluzioni di alginato di sodio all'1% p/v, se acidificate, possono dar luogo alla formazione di gel già dopo 1h di irradiazione, mentre concentrazioni più alte sono necessarie per soluzioni a pH=6 (2.5%). Le stesse evidenze sono state riscontrate anche per l'acido ialuronico a basso peso molecolare e per il suo estere benzilico al 25%. I polisaccaridi menzionati sono; infatti, polielettroliti caratterizzati dalla presenza di gruppi carbossilici. L'acidificazione delle soluzioni di questi polimeri determina la formazione di legami ad idrogeno inter ed intra-catena e, di conseguenza, la formazione, a seguito dell'esposizione all'irradiazione, di gel chimici più forti.

L'acidificazione delle soluzioni, prima dell'irradiazione, permette quindi di ottenere gel a concentrazioni inferiori di polimero e tempi



- 6 -

di irradiazione più brevi, evitando così eventuali problemi di degradazione dei polimeri.

I gel sintetizzati dai polimeri studiati, avendo caratteristiche di biocompatibilità e biodegradabilità, possono essere utilizzati in campo medico-sanitario, chirurgico ed in cosmetica. Ad esempio, gel in forma di film, pellicole e membrane possono trovare applicazione in diversi settori della medicina, quali in oftalmologia, dermatologia, otorinolaringoiatria, neurologia, come sostitutivi di tessuti o rivestimenti di organi. Ancora, i gel possono trovare impiego in forma di fibre e fili per le suture effettuate durante le operazioni chirurgiche o in forma di garze per la medicazione di ferite. Infine importante può essere l'impiego dei composti, la cui sintesi è riportata nella presente invenzione, come sistemi di rilascio controllato di uno o più principi attivi, quali proteine, fattori di crescita, enzimi, farmaci, e sostanze biologicamente attive per uso orale, topico, s.c., i.m. o i.v. In funzione della dose di gamma-irradiazione adoperata, è possibile infatti ottenere gel tridimensionali da utilizzare come sistemi di rilascio di farmaci per uso topico ed orale, o soluzioni visco-elastiche da somministrare per via sottocutanea, intramuscolare o intravenosa. L'inserimento del principio attivo all'interno del gel può essere effettuato sia tramite rigonfiamento dello stesso, allo stato secco, in una soluzione acquosa contenente il composto da incorporare, che mescolando il principio attivo alla soluzione di polimero



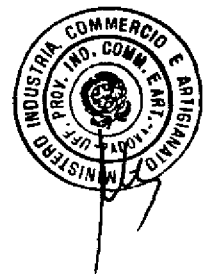
- 7 -

funzionalizzata e purificata ed in seguito irradiando la stessa al fine di ottenere il gel. Quest'ultimo metodo è particolarmente utile nel caso si desideri incorporare molecole di grosse dimensioni come peptidi o proteine che difficilmente penetrerebbero all'interno di un gel posto a rigonfiare in soluzione acquosa. E' dunque importante sintetizzare gel a basse dosi di gamma-irradiazione, in modo tale da non alterare l'attività biologica del farmaco da incorporare. L'ottenimento di gel a basse dosi di gamma irradiazione, così come accade irradiando soluzioni acide dei polisaccaridi polielettroliti studiati, può quindi costituire un grosso vantaggio per l'eventuale incorporazione di farmaci. Infine il rilascio del farmaco dal gel può essere controllato dalla velocità di degradazione della matrice polimerica.

Di seguito sono riportati alcuni esempi di preparazione di gel da polisaccaridi secondo la presente invenzione:

ESEMPIO 1:

1 gr. di alginato di sodio (viscosità media) è stato dissolto in 20 ml di acqua distillata deionizzata (5%p/v). A questa soluzione sono stati aggiunti 1.3 ml di glicidil acrilato. La reazione è stata effettuata a temperatura ambiente e sotto agitazione costante. Dopo 24 ore, la reazione è stata bloccata tramite aggiunta di 6,5 ml di glicina al 20%p/v. La soluzione è stata lasciata in agitazione per altri 30 minuti, dializzata per 48 ore in acqua distillata deionizzata ed infine

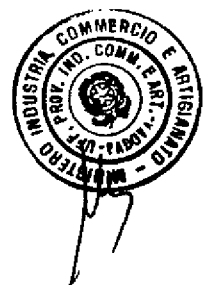


centrifugata a 3000 rpm per circa 20 minuti. La concentrazione finale della soluzione è risultata pari a circa l'1% p/v ed il pH=6. Soluzioni a concentrazione pari all'1.5, 2, 2.5 e 3% sono state ottenute tramite concentrazione con evaporatore rotante delle soluzioni all'1%.

Le soluzioni purificate di polimero funzionalizzato sono state in seguito gamma irradiate alla dose di 0.0606 Mrad/h per tempi variabili da 1 ad 8 ore (0.0606-0.4848 Mrad). Le concentrazioni minime necessarie per la formazione di gel ai tempi di irradiazione indicati sono riportati in fig. 1.

ESEMPIO 2:

1 gr. di alginato di sodio (viscosità media) è stato dissolto in 20 ml di acqua distillata deionizzata (5%p/v). A questa soluzione sono stati aggiunti 1,3 ml di glicidil acrilato. La reazione è stata effettuata a temperatura ambiente e sotto agitazione costante. Dopo 24 ore, la reazione è stata bloccata tramite aggiunta di 6,5 ml di glicina al 20%p/v. La soluzione è stata lasciata in agitazione per altri 30 minuti, dializzata per 48 ore in acqua distillata deionizzata ed infine centrifugata a 3000 rpm per circa 20 minuti. La concentrazione finale della soluzione è risultata pari a circa l'1% p/v ed il pH=6. Soluzioni a concentrazione pari all'1.5, 2, 2.5 e 3% sono state ottenute tramite concentrazione con evaporatore rotante delle soluzioni all'1%. Le soluzioni a diverse concentrazioni sono state acidificate a pH=3



- 9 -

tramite aggiunta di acido citrico in modo tale da non cambiare significativamente la concentrazione iniziale del polimero.

Le soluzioni purificate di polimero funzionalizzato sono state in seguito gamma irradiate alla dose di 0.0606 Mrad/h per tempi variabili da 1 ad 8 ore (0.0606-0.4848 Mrad). Le concentrazioni minime necessarie per la formazione di gel ai tempi di irradiazione indicati sono riportati in fig. 1.

I gel tridimensionali ottenuti dall'acido alginico sono stati tagliati (1cm^3) e fatti seccare a temperatura ambiente per 24 ore ed a temperatura di $60\text{ }^\circ\text{C}$ per 12 ore. I campioni, in replicati di tre, sono stati pesati allo stato secco, lasciati a rigonfiare in acqua distillata deionizzata fino al raggiungimento dell'equilibrio ed infine ripesati nello stato completamente rigonfiato. I valori di Q relativi ad 1 ed 8 ore di gamma-irradiazione sono pari rispettivamente a 4.5 - 5.55 per gel al 3% e 5.6-6.5 per gel al 2.5%. I valori di Q aumentano con l'aumentare del tempo di gamma-irradiazione.

ESEMPIO 3:

1 gr. di alginato di sodio (viscosità media), è stato dissolto in 20 ml di acqua distillata deionizzata (5%p/v). A questa soluzione sono stati aggiunti 0.8 ml di glicidil acrilato. La reazione è stata effettuata a temperatura ambiente e sotto agitazione costante. Dopo 24 ore, la reazione è stata bloccata tramite aggiunta di 4 ml di glicina al 20%p/v.



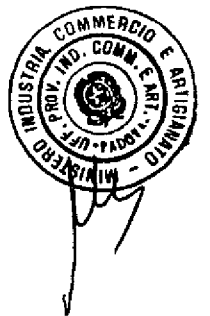
- 10 -

La soluzione è stata lasciata in agitazione per altri 30 minuti, dializzata per 48 ore in acqua distillata deionizzata ed infine centrifugata a 3000 rpm per circa 20 minuti. La concentrazione finale della soluzione è risultata pari a circa l'1% p/v ed il pH=6. Soluzioni a concentrazione pari all'1.5, 2, 2.5 e 3% sono state ottenute tramite concentrazione con evaporatore rotante delle soluzioni all'1%.

Le soluzioni purificate di polimero funzionalizzato sono state in seguito gamma irradiate alla dose di 0.0606 Mrad/h per tempi variabili da 1 ad 8 ore (0.0606-0.4848 Mrad). Le concentrazioni minime necessarie per la formazione di gel ai tempi di irradiazione indicati sono riportati in fig. 1.

ESEMPIO 4:

1 gr. di alginato di sodio (viscosità media), è stato dissolto in 20 ml di acqua distillata deionizzata (5%p/v). A questa soluzione sono stati aggiunti 0.8 ml di glicidil acrilato. La reazione è stata effettuata a temperatura ambiente e sotto agitazione costante. Dopo 24 ore, la reazione è stata bloccata tramite aggiunta di 4 ml di glicina al 20%p/v. La soluzione è stata lasciata in agitazione per altri 30 minuti, dializzata per 48 ore in acqua distillata deionizzata ed infine centrifugata a 3000 rpm per circa 20 minuti. In seguito a dialisi la concentrazione finale della soluzione è risultata pari a circa l'1% p/v ed il pH=6. Soluzioni a concentrazione pari all'1.5, 2, 2.5 e 3% sono



- 11 -

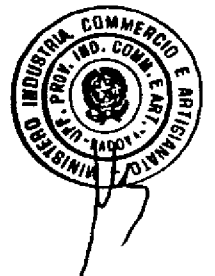
state ottenute tramite concentrazione con evaporatore rotante delle soluzioni all'1%. Le soluzioni a diverse concentrazioni sono state acidificate a pH=3 tramite aggiunta di acido citrico in modo tale da non cambiare significativamente la concentrazione iniziale del polimero.

Le soluzioni purificate di polimero funzionalizzato sono state in seguito gamma irradiate alla dose di 0.0606 Mrad/h per tempi variabili da 1 ad 8 ore (0.0606-0.4848 Mrad). Le concentrazioni minime necessarie per la formazione di gel ai tempi di irradiazione indicati sono riportati in fig. 1.

I gel tridimensionali ottenuti dall'acido alginico sono stati tagliati (1 cm^3) e fatti seccare a temperatura ambiente per 24 ore ed a temperatura di $60\text{ }^\circ\text{C}$ per 12 ore. I campioni, in replicati di tre, sono stati pesati allo stato secco, lasciati a rigonfiare in acqua distillata deionizzata fino al raggiungimento dell'equilibrio ed infine ripesati nello stato completamente rigonfiato. I valori di Q relativi ad 1 ed 8 ore di gamma-irradiazione sono risultati pari rispettivamente a 4.8 - 7.25 per gel al 3% e 6.1-8.21 per gel al 2.5%. I valori di Q aumentano con l'aumentare del tempo di gamma-irradiazione.

ESEMPIO 5:

1 gr. di acido ialuronico è stato dissolto in 20 ml di acqua distillata deionizzata (5%p/v). A questa soluzione sono stati aggiunti 0.8 ml di glicidil acrilato. La reazione è stata effettuata a temperatura ambiente e



- 12 -

sotto agitazione costante. Dopo 24 ore, la reazione è stata bloccata tramite aggiunta di 4 ml di glicina al 20%p/v. La soluzione è stata lasciata in agitazione per altri 30 minuti, dializzata per 48 ore in acqua distillata deionizzata ed infine centrifugata a 3000 rpm per circa 20 minuti. La concentrazione finale della soluzione è risultata pari a circa l'1% p/v. Soluzioni a concentrazione pari all'1.5, 2, 2.5 e 3% sono state ottenute tramite concentrazione con evaporatore rotante delle soluzioni all'1%.

Le soluzioni purificate di polimero funzionalizzato sono state in seguito gamma irradiate alla dose di 0.0606 Mrad/h per tempi variabili da 1 ad 8 ore (0.0606-0.4848 Mrad). Le concentrazioni minime necessarie per la formazione di gel ai tempi di irradiazione indicati sono riportati in fig. 2.

ESEMPIO 6:

1 gr. di acido ialuronico è stato dissolto in 20 ml di acqua distillata deionizzata (5%p/v). A questa soluzione sono stati aggiunti 0.8 ml di glicidil acrilato. La reazione è stata effettuata a temperatura ambiente e sotto agitazione costante. Dopo 24 ore, la reazione è stata bloccata tramite aggiunta di 4 ml di glicina al 20%p/v. La soluzione è stata lasciata in agitazione per altri 30 minuti, dializzata per 48 ore in acqua distillata deionizzata ed infine centrifugata a 3000 rpm per circa 20 minuti. La concentrazione finale della soluzione è risultata pari a



- 13 -

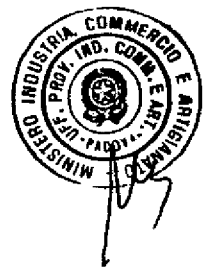
circa l'1% p/v ed il pH=6. Soluzioni a concentrazione pari all'1.5, 2, 2.5 e 3% sono state ottenute tramite concentrazione con evaporatore rotante delle soluzioni all'1%. Le soluzioni a diverse concentrazioni sono state acidificate a pH=3 tramite aggiunta di acido citrico in modo tale da non cambiare significativamente la concentrazione iniziale del polimero.

Le soluzioni purificate di polimero funzionalizzato sono state in seguito gamma irradiate alla dose di 0.0606 Mrad/h per tempi variabili da 1 ad 8 ore (0.0606-0.4848 Mrad). Le concentrazioni minime necessarie per la formazione di gel ai tempi di irradiazione indicati sono riportati in fig. 2.

I gel tridimensionali ottenuti dall'acido ialuronico sono stati tagliati (1cm³) e fatti seccare a temperatura ambiente per 24 ore ed a temperatura di 60 °C per 12 ore. I campioni, in replicati di tre, sono stati pesati allo stato secco, lasciati a rigonfiare in acqua distillata deionizzata fino al raggiungimento dell'equilibrio ed infine ripesati nello stato completamente rigonfiato. I valori di Q relativi ad 1 ed 8 ore di gamma-irradiazione sono risultati pari rispettivamente a 5,5 - 8,71 per gel al 3% e 6.62-11.3 per gel al 2%. I valori di Q aumentano con l'aumentare del tempo di gamma-irradiazione.

ESEMPIO 7:

1 gr. di estere benzilico dell'acido ialuronico, parzialmente esterificato



- 14 -

al 25%, è stato dissolto in 20 ml di acqua distillata deionizzata (5%p/v). A questa soluzione sono stati aggiunti 0.8 ml di glicidil acrilato. La reazione è stata effettuata a temperatura ambiente e sotto agitazione costante. Dopo 24 ore, la reazione è stata bloccata tramite aggiunta di 4 ml di glicina al 20%p/v. La soluzione è stata lasciata in agitazione per altri 30 minuti, dializzata per 48 ore in acqua distillata deionizzata ed infine centrifugata a 3000 rpm per circa 20 minuti. La concentrazione finale della soluzione è risultata pari a circa l'1% p/v ed il pH=6. Soluzioni a concentrazione pari all'1.5, 2, 2.5 e 3% sono state ottenute tramite concentrazione con evaporatore rotante delle soluzioni all'1%. Le soluzioni purificate di polimero funzionalizzato sono state in seguito gamma irradiate alla dose di 0.0606 Mrad/h per tempi variabili da 1 ad 8 ore (0.0606-0.4848 Mrad). Le concentrazioni minime necessarie per la formazione di gel ai tempi di irradiazione indicati sono riportati in fig. 3.

ESEMPIO 8:

1 gr. di estere benzilico dell'acido ialuronico, parzialmente esterificato al 25%, è stato dissolto in 20 ml di acqua distillata deionizzata (5%p/v). A questa soluzione sono stati aggiunti 0.8 ml di glicidil acrilato. La reazione è stata effettuata a temperatura ambiente e sotto agitazione costante. Dopo 24 ore, la reazione è stata bloccata tramite aggiunta di 4 ml di glicina al 20%p/v. La soluzione è stata lasciata in

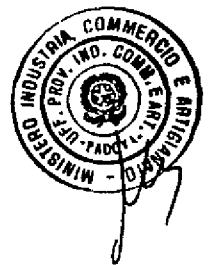


- 15 -

agitazione per altri 30 minuti, dializzata per 48 ore in acqua distillata deionizzata ed infine centrifugata a 3000 rpm per circa 20 minuti. La concentrazione finale della soluzione è risultata pari a circa l'1% p/v ed il pH=6. Soluzioni a concentrazione pari all'1.5, 2, 2.5 e 3% sono state ottenute tramite concentrazione con evaporatore rotante delle soluzioni all'1%. Le soluzioni a diverse concentrazioni sono state acidificate a pH=3 tramite aggiunta di acido citrico in modo tale da non cambiare significativamente la concentrazione iniziale del polimero.

Le soluzioni purificate di polimero funzionalizzato sono state in seguito gamma irradiate alla dose di 0.0606 Mrad/h per tempi variabili da 1 ad 8 ore (0.0606-0.4848 Mrad). Le concentrazioni minime necessarie per la formazione di gel ai tempi di irradiazione indicati sono riportati in fig. 3.

I gel tridimensionali ottenuti dall'HA-25 sono stati tagliati (1cm³) e fatti seccare a temperatura ambiente per 24 ore ed a temperatura di 60°C per 12 ore. I campioni, in replicati di tre, sono stati pesati allo stato secco, lasciati a rigonfiare in acqua distillata deionizzata fino al raggiungimento dell'equilibrio ed infine ripesati nello stato completamente rigonfiato. I valori di Q relativi ad 1 ed 8 ore di gamma-irradiazione sono risultati pari rispettivamente a 4 - 5.62 per gel al 2.5% e 4.6 - 5.95 per gel al 2%. I valori di Q aumentano con l'aumentare del tempo di gamma-irradiazione.

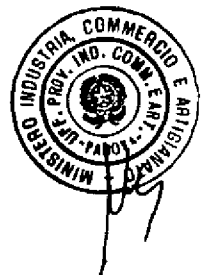


- 16 -

Essendo l'invenzione così descritta, é chiaro che questi metodi possono essere modificati in vari modi. Tali modifiche non sono da considerarsi come divergenze dallo spirito e dalle prospettive dell'invenzione e tutte quelle modifiche che apparirebbero evidenti ad un esperto del campo sono comprese nell'ambito delle seguenti rivendicazioni.

RIVENDICAZIONI:

- 1) Procedimento per la preparazione di idrogeli biocompatibili, a partire da polisaccaridi polielettroliti o loro derivati parzialmente esterificati, che prevede le seguenti fasi:
 - funzionalizzazione della soluzione del polisaccaride con diverse quantità di glicidil acrilato, preferibilmente comprese tra 0.8 e 1.3 ml;
 - purificazione delle soluzioni funzionalizzate tramite dialisi;
 - irradiazione gamma (0.0606-0.4848 Mrad) delle soluzioni del polisaccaride a diversi gradi di acidificazione e, preferibilmente, da pH=3 a pH=6.
- 2) Procedimento per la preparazione di idrogeli secondo la rivendicazione 1, in cui il polisaccaride polielettrolita è l'acido alginico.
- 3) Procedimento per la preparazione di idrogeli secondo la rivendicazione 1, in cui il polisaccaride polielettrolita è l'acido ialuronico.

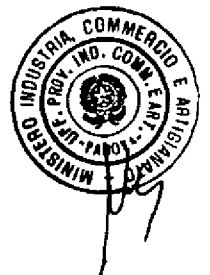


- 16 -

Essendo l'invenzione così descritta, é chiaro che questi metodi possono essere modificati in vari modi. Tali modifiche non sono da considerarsi come divergenze dallo spirito e dalle prospettive dell'invenzione e tutte quelle modifiche che apparirebbero evidenti ad un esperto del campo sono comprese nell'ambito delle seguenti rivendicazioni.

RIVENDICAZIONI:

- 1) Procedimento per la preparazione di idrogeli biocompatibili, a partire da polisaccaridi polielettroliti o loro derivati parzialmente esterificati, che prevede le seguenti fasi:
 - funzionalizzazione della soluzione del polisaccaride con diverse quantità di glicidil acrilato, preferibilmente comprese tra 0.8 e 1.3 ml;
 - purificazione delle soluzioni funzionalizzate tramite dialisi;
 - irradiazione gamma (0.0606-0.4848 Mrad) delle soluzioni del polisaccaride a diversi gradi di acidificazione e, preferibilmente, da pH=3 a pH=6.
- 2) Procedimento per la preparazione di idrogeli secondo la rivendicazione 1, in cui il polisaccaride polielettrolita è l'acido alginico.
- 3) Procedimento per la preparazione di idrogeli secondo la rivendicazione 1, in cui il polisaccaride polielettrolita è l'acido ialuronico.



- 17 -

- 4) Procedimento per la preparazione di idrogeli secondo la rivendicazione 1, in cui i polisaccaridi polielettroliti sono gli esteri benzilici dell'acido ialuronico parzialmente esterificati.
- 5) Idrogeli secondo le rivendicazioni da 1a 4 per la preparazione di biomateriali per uso medico-chirurgico, farmaceutico e cosmetico.
- 6) Idrogeli tridimensionali secondo le rivendicazioni da 1a 5 per la preparazione di membrane, fibre, pellicole, fili e garze.
- 7) Idrogeli tridimensionali di cui alle rivendicazioni da 1a 6 per la preparazione di sistemi di rilascio controllato di principi attivi, quali proteine, fattori di crescita, enzimi, farmaci e sostanze biologicamente attive per uso topico ed orale.
- 8) Idrogeli sotto forma di soluzioni visco-elastiche secondo le rivendicazioni da 1 a 5 per la preparazione di sistemi di rilascio controllato di principi attivi, quali proteine, fattori di crescita, enzimi, farmaci e sostanze biologicamente attive per uso topico, sotto-cutaneo, intramuscolare ed endovenoso.

