



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) PI 9609534-2 B8**



**(22) Data do Depósito:** 28/05/1996

**(45) Data de Concessão:** 12/05/2020

**(54) Título:** PROCESSO PARA PREPARAR UMA COMPOSIÇÃO DE GEL DE POLISSACARÍDEO BIOCOMPATÍVEL RETICULADA, E, COMPOSIÇÃO DE GEL DE POLISSACARÍDEO.

**(51) Int.Cl.:** C08J 3/075; C08B 37/08.

**(52) CPC:** C08J 3/075; C08B 37/0072; C08J 2305/08.

**(30) Prioridade Unionista:** 17/07/1995 US 08/503323.

**(73) Titular(es):** Q MED AB.

**(72) Inventor(es):** BENGT ÅGERUP.

**(86) Pedido PCT:** PCT SE1996000684 de 28/05/1996

**(87) Publicação PCT:** WO 1997/004012 de 06/02/1997

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 15/01/1998

**(57) Resumo:** "PROCESSO PARA PREPARAR UMA COMPOSIÇÃO DE GEL DE POLISSACARÍDEO BIOCOMPATÍVEL RETICULADA, COMPOSIÇÃO DE GEL DE POLISSACARÍDEO E POLISSACARÍDEO BIOCOMPATÍVEL RETICULADO, USO DE UMA COMPOSIÇÃO, E, PROCESSO DE TRATAMENTO MÉDICO OU PROFILÁTICO DE UM MAMÍFERO". A presente invenção fornece um processo para preparar uma composição de gel de polissacarídeo biocompatível reticulada, que compreende: formar uma solução aquosa de um polissacarídeo reticulável, solúvel em água; iniciar uma reticulação do referido polissacarídeo na presença de um agente de reticulação polifuncional para o mesmo; impedir estericamente a reação de reticulação de ser terminada antes que ocorra a geleificação, um polissacarídeo ativado sendo obtido; e reintroduzir as condições estericamente impedidas para o referido polissacarídeo ativado, de modo a continuar a reticulação do mesmo para um gel viscoelástico. A invenção também fornece uma composição de gel obtível por um tal processo, assim como composições de gel para diferentes usos médicos.

“PROCESSO PARA PREPARAR UMA COMPOSIÇÃO DE GEL DE POLISSACARÍDEO BIOCOMPATÍVEL RETICULADA, E, COMPOSIÇÃO DE GEL DE POLISSACARÍDEO”.

CAMPO TÉCNICO:

5                   A presente invenção refere-se ao campo de composições de gel de polissacarídeo biocompatíveis, e mais especificamente a um novo processo para a reticulação de tais composições, uma nova estrutura de gel sendo obtida. A nova estrutura confere propriedades aperfeiçoadas às composições de gel anteriormente conhecidas, assim como permite novos  
10                   usos das referidas composições, tanto como tais como contendo ingredientes ativos.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO:

                  Géis de ligação em água são amplamente usados no campo biomédico. Eles são geralmente preparados pela reticulação  
15                   química de polímeros para redes infinitas. Quando do uso de polímeros biocompatíveis, geralmente tem que ser utilizado um baixo grau de reticulação para a manutenção da referida biocompatibilidade. Entretanto, freqüentemente um gel mais denso é  
20                   requerido para que seja obtido um efeito apropriado do dos ingredientes ativos utilizados, e em tal caso, a biocompatibilidade será freqüentemente perdida.

                  Outra propriedade valiosa dos géis de ligação em água, ou hidrogéis, é a de que os peptídeos e substâncias ativas biologicamente maiores podem ser encerrados nos mesmos para a formação de uma  
25                   composição de liberação sustentada. Entretanto, problemas práticos tem sido envolvidos na obtenção de um tempo de manutenção suficiente do ingrediente ativo, uma vez que, genericamente, o ingrediente ativo é liberado

na mesma taxa em que ele foi dissolvido ou encerrado na composição referida. Além disto, se um tal gel fosse densificado em uma tentativa de manter-se o ingrediente ativo por um tempo maior, ele iria rapidamente intumescer em um tecido animal, onde existe o livre acesso de água.

5. Um dos polímeros biocompatíveis mais amplamente usados para o uso médico é o ácido hialurônico. Como ele está presente em idêntica composição em cada organismo vivo, ele fornece um mínimo de reações e proporciona usos médicos avançados. Como uma consequência disto, ele tem sido matéria de muitas tentativas de modificação. Deste modo, ele tem sido  
10 reticulado com agentes, tais que aldeídos, epóxidos, compostos poliaziridila e divinilsulfona (Laurent et al., Acta Chem. Scand 18 (1964) N° 1, pag. 274; EP 0 161 887B1; EP 0 265 116A2; e US 4.716.154).

Na publicação WO 87/ 07898 é exposta uma reação de um polissacarídeo com um epóxido polifuncional, a remoção do excesso do  
15 referido epóxido e finalmente a operação de secagem para reticular o referido polissacarídeo em um filme, material pulverizado ou produto seco similar. Entretanto, não existe sugestão na mesma para diluir o polissacarídeo ativado, e então reconcentrar o mesmo na densidade ou consistência desejada, que é então substancialmente permanente.

20 A patente US 5.128.326 expõe uma quantidade de ácidos hialurônicos modificados para uso como produtos farmacêuticos de depósito. Os processos expostos de “carga” das preparações de gel são todos baseados em uma difusão do ingrediente ativo no gel, e então em uma liberação do mesmo com a mesma constante de difusão. Contrariamente a isto, a presente  
25 invenção envolve uma dissolução do ingrediente ativo, seguida por uma densificação ou concentração da composição do gel, até que não ocorra, ou que ocorra uma difusão muito menor do referido ingrediente ativo.

A patente US 5.399.351 expõe misturas de gel e de soluções poliméricas, as referidas soluções sendo utilizadas para aperfeiçoar as

propriedades reológicas do gel. Entretanto, também neste caso, são expostos géis reversivelmente comprimidos, como pode ser observado a partir de, por exemplo, col.6, linhas 53-58.

#### SUMÁRIO DA INVENÇÃO:

5 De acordo com a presente invenção, foi inesperadamente verificado que as composições de gel de polissacarídeo tendo uma nova estrutura e, deste modo, novas, notáveis propriedades, podem ser obtidas através do uso de uma nova técnica para a reticulação das mesmas. A referida  
10 propriedades da composição de gel de polissacarídeo manufaturada, que, por sua vez, torna possível especificar a composição final para os propósitos intencionados.

Mais especificamente, um objeto da presente invenção é o de fornecer um processo para a preparação de uma composição de gel de  
15 polissacarídeo reticulada, cuja biocompatibilidade da mesma pode ser retida, a despeito de um elevado grau de reticulação ou polimerização.

Outro objeto da invenção é o de prover uma composição de gel de polissacarídeo com propriedades viscoelásticas, a despeito de ser reticulada a um grau substancial.

20 Ainda um outro objeto da invenção é o de proporcionar uma composição de gel de polissacarídeo, que seja mais ou menos irreversivelmente densificada ou concentrada, isto é, que não seja substancialmente intumescível, ou o seja apenas em um grau limitado quando contatada com água.

25 Ainda um outro objeto da invenção é o de fornecer uma composição de gel de polissacarídeo encerrando uma substância biologicamente ativa para uso como uma composição de liberação sustentada ou como uma composição de depósito.

Outro objeto da invenção é o de prover composições de gel de

polissacarídeo contendo uma variedade de substâncias biologicamente ativas para usos como composições médicas ou profiláticas para diferentes propósitos.

5 Ainda um outro objeto da invenção é o de proporcionar usos das composições referidas para a manufatura de composições médicas ou profiláticas, assim como para a administração a mamíferos, especialmente humanos.

10 Ainda um outro objeto da invenção é o de fornecer uma composição de gel de polissacarídeo ativada parcialmente reticulada, como obtida como um intermediário no processo acima mencionado de acordo com a invenção, cujo intermediário pode ser finalmente reticulado *in situ* em qualquer sítio desejado.

Estes e outros objetos da invenção tornar-se-ão evidentes pela descrição mais detalhada dos mesmos, abaixo apresentada.

## 15 DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

De acordo com um aspecto da presente invenção é assim provido um processo para preparar uma composição de gel de polissacarídeo biocompatível reticulada, cujo processo compreende:

- 20 - formar uma solução aquosa de um polissacarídeo reticulável, solúvel em água;
- iniciar uma reticulação do referido polissacarídeo na presença de um agente de reticulação polifuncional para o mesmo;
- impedir estericamente a reação de reticulação de ser terminada antes que ocorra a geleificação, sendo deste modo obtido um
- 25 polissacarídeo ativado; e
- reintroduzir condições estericamente não-impedidas para o referido polissacarídeo ativado, de modo a continuar a reticulação do mesmo até a um gel viscoelástico.

Em outras palavras, o novo processo de acordo com a presente

invenção envolve uma reticulação de um polissacarídeo reticulável, solúvel em água, em pelo menos duas etapas ou estágios, em que a reação de reticulação é descontinuada antes que a geleificação seja iniciada, a referida descontinuação sendo efetuada pelo impedimento estérico da referida reação de reticulação. A reação de reticulação é então continuada em uma segunda etapa pela reintrodução de condições estericamente não-impedidas.

Assim, foi primeiramente inesperadamente verificado que, pelo referido impedimento estérico, um polissacarídeo ativado é obtido, cuja reticulação ou polimerização do mesmo pode ser continuada, simplesmente, pela reintrodução de condições estericamente não-impedidas para o mesmo. Em segundo lugar, foi também inesperadamente verificado, que a composição de gel de polissacarídeo, obtida deste modo, não forma a estrutura densa, compacta, que teria sido obtida se a correspondente reação de reticulação tivesse sido efetuada em uma única etapa para um gel totalmente reticulado, mas preferivelmente para um gel viscoelástico. Além disto, como foi mencionado acima, a nova estrutura de gel, obtida pela presente invenção, representa uma estrutura de gel substancialmente irreversível, que não intumescce em nenhuma extensão apreciável em contato com a água ou com qualquer outro meio aquoso. Genericamente, isto significava que o referido reintumescimento é inferior a 10%, em volume, baseado no volume como obtido a partir do processo reivindicado.

Embora a invenção não esteja limitada por qualquer teoria, pode ocorrer que a nova estrutura obtida pela presente invenção seja uma combinação de reticulação entre cadeias de polímero existentes e um alongamento de cadeias existentes, preferivelmente a uma rede muito densa, fornecendo uma estrutura muito rígida. O que pode sugerir um tal mecanismo é o fato de que um produto viscoelástico é obtível pela invenção.

Como aqui usado, o termo “impedir estericamente a reação de reticulação” deve ser interpretado em um sentido amplo, isto é, não precisa

necessariamente constituir um impedimento completo mas, em muitos casos, preferivelmente um impedimento parcial da reação referida. Ou seja, o que é importante é que a taxa de reticulação é substancialmente reduzida para permitir com que a reação de reticulação final ocorra com novos sítios de reação envolvidos.

De modo similar, o termo “reintroduzir condições estericamente não-impedidas” deve ser também interpretado de modo amplo, o que significa genericamente que as referidas condições estericamente não-impedidas não precisam necessariamente ser exatamente as mesmas condições estéricas que foram usadas quando do início da reação de reticulação. Deste modo, o que é genericamente importante é que as referidas condições estericamente não-impedidas permitam com que ocorram reações mais rápidas do que com as referidas condições estericamente impedidas.

O impedimento estérico da reação de reticulação deve ser obténível em muitos modos diferentes, mas uma modalidade preferida da invenção a este respeito é representada pelo caso em que o impedimento estérico compreende a diluição do meio aquoso, no qual a reação de reticulação é efetuada, para alcançar uma concentração mais baixa do polissacarídeo no referido meio.

Reintroduzir as condições estericamente não-impedidas deve ser também possível em diferentes modos, mas uma modalidade preferida a este respeito é o caso que compreende a evaporação do meio aquoso, no qual a reação de reticulação é efetuada, para alcançar uma concentração mais elevada do polissacarídeo no referido meio. Outra modalidade preferida a este respeito é representada pelo caso que compreende a diálise do meio aquoso, no qual a reação de reticulação é efetuada.

De acordo com uma modalidade preferida da invenção, o impedimento estérico da reação de reticulação é efetuado antes que o agente de reticulação tenha sido consumido. Isto, por sua vez, significa

genericamente também que a reintrodução de condições estericamente não-impedidas é iniciada na presença do referido agente de reticulação não-consumido.

5 O impedimento estérico da reação de reticulação pode ser geralmente iniciado ou realizado na faixa de 50-90% do tempo de geleificação total usado no processo de acordo com a invenção, sendo também levada em consideração a elasticidade ou consistência adequada para o uso intencionado da composição.

10 A idéia inventiva deve ser aplicável a qualquer polissacarídeo biocompatível que seja reticulável e solúvel em um meio aquoso. Deste modo, o termo “solúvel em água” deve ser interpretado em um sentido amplo, a água pura não sendo necessariamente necessária. Ou seja, solução aquosa significa qualquer solução aquosa, em que a água seja o componente principal. Um subgrupo de polissacarídeos preferido em conexão com a  
15 invenção é, entretanto, um glicose amino glucano, do qual o ácido hialurônico é um exemplo especialmente interessante.

O agente de reticulação a ser usado em conexão com a invenção é qualquer agente de reticulação previamente conhecido, útil em conexão com polissacarídeos, sendo levado em consideração assegurar-se  
20 que os pré-requisitos de biocompatibilidade sejam preenchidos. Preferivelmente, entretanto, o agente de reticulação é selecionado a partir do grupo que consiste de aldeídos, epóxidos, compostos de poliaziridila, éteres de glicidila e divinilsulfonas. Destes, os ésteres de glicidila representam uma grupo especialmente preferido, do qual o éter de diglicidila 1,4-butandiol  
25 pode ser referido como um exemplo preferido. Nesta conexão, deve ser também mencionado que “polifuncional” inclui difuncional.

A reação de reticulação inicial na presença de um agente de reticulação polifuncional pode ser realizada em valores de pH variáveis, primariamente dependendo de se devem ser promovidas reações de éter ou de

éster. Preferivelmente, isto significa que a referida reação de reticulação é efetuada em um pH alcalino, especialmente em um pH acima de 9, por exemplo, na faixa de um pH de 9-12, quando da promoção de formações de éter. Quando da promoção de formações de éster, a referida reação de reticulação é preferivelmente efetuada em um pH ácido, especialmente em um pH de 2-6.

Um aspecto interessante da invenção é representado pelo caso em que a composição de gel de polissacarídeo reticulada preparada é utilizada de tal modo que a invenção permita a manufatura de uma composição viscoelástica. Uma tal composição viscoelástica é, por exemplo, útil em cirurgia oftálmica, como um substituto do fluido sinovial, como gotas para os olhos, etc, e como acima referido, a presente invenção torna possível especificar as propriedades viscoelásticas para tais usos. Assim, pela utilização da tecnologia estérica de acordo com a presente invenção, é possível obter extensões de cadeia, ramificações de cadeia, reticulações, etc, em um modo mais controlado que pelas técnicas previamente usadas, com sítios de acoplamento mais ou menos randomizados.

Além disto, por meio do fato de que os géis obtidos de acordo com a invenção não retêm o seu volume original na presença de um meio aquoso, os novos produtos não causam qualquer interferência ou efeitos de volume negativos nestes ou em outros usos médicos.

De acordo com a presente invenção, é também possível incluir dentro da composição de gel de polissacarídeo qualquer substância biologicamente ativa, para qual um veículo de gel de polissacarídeo seja desejado ou aceito. Neste contexto, a técnica de diluição-concentração usada no processo reivindicado permite o encerramento da referida substância biologicamente ativa antes de que o polissacarídeo seja submetido a condições estericamente não-impedidas. Ou seja, enquanto que as condições estericamente não-impedidas geralmente significam uma operação de

concentração, uma tal operação significa que a substância biologicamente ativa estará presente em uma fase que é mais compactada do que a referida substância que foi incluída no referido veículo. Em outras palavras, a substância biologicamente ativa pode ser retida por muito mais tempo, se comparada às reações de reticulação de gel previamente conhecidas. Deste modo, um melhor perfil de liberação sustentada para a substância ativa é obtenível.

Em conexão com a incorporação da substância biologicamente ativa na composição, um ajuste das condições para o pH fisiológico e para as condições salinas é preferivelmente efetuado para a obtenção de uma preparação pronta para o uso médico. Um tal ajuste fisiológico é preferido também com referência às condições de reação, na medida em que o segundo estágio do processo foi verificado como sendo efetuado sob tais condições.

A invenção não deve estar limitada sob nenhum aspecto como uma substância biologicamente ativa, se comparada ao uso da referida substância em casos antecedentes. Em outras palavras, a condição a ser tratada deve ser decisiva para a substância específica a ser selecionada.

Entretanto, substâncias interessantes em conexão com a invenção podem ser selecionadas a partir do grupo que consiste de hormônios, citocinas, vacinas, substâncias de aumento de tecido e de células. Deste modo, a combinação única de propriedades da nova composição de gel de acordo com a presente invenção, a torna extremamente vantajosa em conexão com estas substâncias, isto é, primariamente devido às notáveis propriedades de depósito ou de liberação sustentada e às propriedades de não-intumescimento.

Um grupo interessante de substâncias biologicamente ativas constitui, deste modo, é o das substâncias de aumento de tecido, à medida em que um gel de polissacarídeo é um veículo vantajoso para o mesmo. Detalhes adicionais referentes a tais produtos podem ser encontrados na WO

94/21299. Mais especificamente, uma substância de aumento de tecido preferido compreende um polímero selecionado a partir de colágeno, amido, dextranômero, polilactídeo e copolímeros do mesmo, e poli- $\beta$ -hidroxibutirato e copolímeros do mesmo.

5                   Em conexão com os hormônios, eritropoietina e calcitonina são especialmente preferidos.

10                   O processo de acordo com a presente invenção também permite a incorporação da substância biologicamente ativa pela reação química com a estrutura de gel de polissacarídeo, ou do agente de reticulação para a mesma, contanto que a referida substância ativa contenha grupos funcionais reativos com a mesma. Propriedades únicas ou combinações de propriedades podem, deste modo, ser obtidas, à medida em que, em tal caso, por exemplo, a taxa de liberação do ingrediente ativo será decidida antes pela degradação ou decomposição da rede de polímero, que pela dissolução ou

15                   taxa de migração da substância referida a partir da rede do gel.

20                   Uma modificação da técnica por último mencionada de acordo com a invenção significa que os grupos funcionais da substância ativa podem ter sido pré-reagidos com um agente de reticulação para o polissacarídeo. Preferivelmente, é usado o mesmo agente de reticulação que é usado na reticulação do polissacarídeo.

25                   Como o processo da presente invenção fornece uma nova composição ou estrutura de gel de polissacarídeo, outro aspecto da invenção é representado pela nova composição de gel de polissacarídeo preparada. A este respeito, o escopo de proteção abrange não apenas a composição de gel de polissacarídeo, sempre que preparada pelo referido processo, mas também qualquer composição de gel que seja obtível por uma técnica similar.

                  Expressa de outro modo, a presente invenção também fornece uma composição de gel de polissacarídeo biocompatível reticulada, que é obtível pela reticulação de um polissacarídeo reticulável com um agente de

reticulação polifuncional para a mesma em dois estágios, o primeiro estágio de reticulação sendo terminado antes que ocorra a geleificação, por um impedimento estérico da reação de reticulação, e o segundo estágio de reticulação sendo iniciado pela reintrodução de condições estericamente não-impedidas para que a referida reação de reticulação continue a mesma até um gel viscoelástico.

Todas as características que foram apresentadas como características preferidas ou interessantes em conexão com o processo reivindicado são também aplicáveis à referida composição de gel de polissacarídeo per se e não necessitam ser repetidas mais uma vez.

Ainda um outro aspecto desta invenção é representado pelo caso em que um produto intermediário é obtido pelo adiamento do estágio final da reação de reticulação com condições estericamente não-impedidas para um estágio ou sítio final, por exemplo no último uso da composição. Deste modo, foi verificado que o produto intermediário, obtido após o impedimento estérico da reação de reticulação, possui uma estabilidade tal que a terminação da reação de reticulação pode ser efetuada em um estágio final.

A invenção refere-se também à composição acima definida para uso como uma composição médica ou profilática.

Outro aspecto da invenção é o uso da referida composição para a manufatura de uma composição médica ou profilática para qualquer dos propósitos médicos ou terapêuticos acima mencionados, o aumento de tecido e tratamento de hormônio de um mamífero, especialmente de um ser humano, sendo aplicações preferidas.

Finalmente, a invenção refere-se a um processo de tratamento médico ou profilático de um mamífero, especialmente de um ser humano, que compreende administrar uma composição, como acima definida, a um mamífero em necessidade de um tal tratamento.

**EXEMPLOS:**

A invenção será agora exemplificada pelos seguintes exemplos não-limitantes.

**Exemplo 1:**5 **Ativação do polímero:****a. Sob condições alcalinas**

Polissacarídeo sob a forma de 10 g de ácido hialurônico, preparado pela fermentação de Streptococcus, foi dissolvido em 100 ml de NaOH a 1% pH >9. O agente de reticulação sob a forma de éter de diglicidila 1,4-butandiol foi adicionado a uma concentração de 0,2%. A solução foi incubada a 40°C por 4 horas.

**b. Sob condições ácidas**

O experimento foi realizado como em 1a, mas em um pH ácido de cerca de 2-6, pela adição de 1% de ácido acético à solução em vez de NaOH de acordo com 1a.

**Exemplo 2:****Preparação de um gel viscoelástico**

Os incubados, de acordo com 1a e 1b, foram diluídos a um volume de duas vezes o volume finalmente desejado, ou de cerca de 0,5-1, e foram neutralizados. O gel foi então evaporado, rotativamente, para um gel viscoelástico.

**Exemplo 3:****Preparação de um gel contendo partículas de dextranômero**

Os incubados, de acordo com 1 a e 1 b, foram diluídos a uma concentração de 1% e 20 g de partículas de dextranômero secas (Sephadex<sup>®</sup>25, Pharmacia) foram misturadas com a solução, as partículas sendo encerradas pela reticulação do polímero de ácido hialurônico em poucos minutos, como uma consequência da concentração de ácido hialurônico que é realizada por uma absorção de água pelas esferas de

dextranômero.

Os géis viscoelásticos obtidos eram estáveis, autoclaváveis e injetáveis por meio de agulhas hipodérmicas finas.

**Exemplo 4:**

5 Preparação de um gel para uso como medicamento de depósito contendo eritropoietina (EPO)

O incubado, obtido no Exemplo 1a, foi diluído a uma concentração de 1% e o pH foi ajustado pela adição de um tampão de citrato de acordo com as instruções do fabricante (Ortho Biotech Inc., Raritan EUA)  
10 para uma boa estabilidade em solução aquosa.  $5 \times 10^6$  IU de EPO foram adicionadas sob agitação. Após a evaporação da solução a 1/4 do volume, o polímero tinha sido reticulado para uma composição de depósito e uma quantidade de 20 000 IU de EPO/ml foram recuperadas.

**Exemplo 5:**

15 Preparação de um gel para uso como uma preparação de depósito contendo calcitonina

100 IU/ ml de calcitonina de salmão (Miacalcic<sup>®</sup> Sandoz) foram misturadas com 2% de solução de polímero manufaturada de acordo com o Exemplo 1b e a solução foi concentrada a 5% (250 IU/ml) por  
0 evaporação rotativa. Um cavalo com claudicação crônica na perna direita frontal foi tratado com uma injeção de 2 ml s.c. por semana durante duas semanas. Nas seis semanas que se seguiram a estas, o cavalo esteve isento de dores. O cálcio do soro foi reduzido em apenas 12%.

**Exemplo 6:**

25 Preparação de um gel contendo heparina para ser liberado de um modo sustentado

Em um polímero ativado diluído, de acordo com o Exemplo 4, foi dissolvida heparina, em uma quantidade de 5% do polímero. A mistura obtida foi equilibrada por 1 hora, após o que foi evaporada para 1/4 do

volume. Uma coagulação inibindo a liberação da mesma foi observada durante 16 dias de incubação em solução fisiológica salina.

**Exemplo 7:**

Preparação de um gel com heparina covalentemente ligada em uma posição estericamente controlada.

Polímero ativado, de acordo com o Exemplo 1, foi precipitado em metanol sob vigorosa agitação. A precipitação finamente processada obtida foi secada durante a noite. A heparina foi ativada de acordo com o Exemplo 1. Após a referida incubação (4 horas a 40°C) a precipitação do polímero foi misturada com a solução de heparina ativada. A mistura foi incubada durante a noite e no dia seguinte a solução de gel foi neutralizada, particulada e lavada a partir de resíduos de reagente.

O gel formado era capaz de ligar o fator de crescimento, inter alia o Fibroblast Grow Factor básico (bFGF), mas não demonstrou qualquer inibição da coagulação do sangue total.

**Exemplo 8:**

Preparação de um gel contendo grupos de quitosano positivamente carregados

A incubação de uma mistura de 7,5g de polímero de ácido hialurônico e de 2,5g de quitosano (Vide Cure<sup>®</sup>Protan) foi realizada de acordo com o exemplo 1. Após dissolução e neutralização, foi obtida uma solução viscoelástica copolimerizada. A referida solução possuía propriedades promotoras de cura após ter sido aplicada a uma ferida de cura lenta.

**Exemplo 9:**

Preparação de um gel que foi estericamente acoplado

7,5 g de ácido hialurônico foram ativados de acordo com o Exemplo 1a. Do mesmo modo, 2,5 g de dextrano foram ativados. O ácido hialurônico foi precipitado em metanol, a precipitação sendo então misturada

com 500 ml de uma solução de dextrano a 0,5% ativada diluída. Após agitação e ajuste do pH e da concentração de sal, foi obtida uma solução viscoelástica. 5 ml da referida solução foram infundidos em uma bainha de tendão de Aquiles, que demonstrou repetidamente inflamação sob a forma de ferimento e de "fendilhamento". Após quatro semanas, os problemas do referido tendão de Aquiles haviam desaparecido.

#### **Exemplo 10:**

##### Preparação de um gel para uso como um depósito medicamentoso contendo GMCSF

10 O produto foi preparado de acordo com o Exemplo 5, mas em vez de calcitonina foi adicionado 1 mg/g do polímero Granulocyte macrophage - colony stimulating factor, GMCSF (Leucomax<sup>®</sup>).

#### **Exemplo 11:**

##### Preparação de um gel contendo um vírus tipo Influenza A2 morto

15 A preparação foi realizada como no Exemplo 4, mas em vez de EPO foram adicionados 40 960 HAU de vírus de cavalo de influenza morto por 100 ml de solução de polímero a 1% ativa diluída. Após contração de 4 x, a preparação continha 1600 HAU por ml. Pela vacinação de mais que 100 cavalos, em conexão com uma influenza epidêmica, a preparação foi verificada como sendo altamente efetiva para a proteção contra a infecção, cuja proteção foi mantida por um longo tempo (mais que 6 meses).

#### **Exemplo 12:**

##### Preparação de um gel fresco contendo uma suspensão de célula viva

25 Uma cultura de fibroblasto de 5 ml foi misturada com 100 ml de uma solução neutralizada de acordo com o exemplo 1a. A mistura foi oxigenada e secada para a metade do volume. Foi obtida uma solução viscoelástica contendo células vivas.

#### **Exemplo 13:**

##### Preparação de um gel micronizado denso contendo peptídeos pequenos

A um gel neutralizado ativado, de acordo com o Exemplo 1 a, foram adicionados 5 mg de um peptídeo tendo 12 aminoácidos. O gel foi evaporado durante agitação para 10% e foi suspenso em óleo mineral. Após a adição de metanol, as partículas de gel seco foram filtradas e limpas por lavagem a partir de resíduos oleosos.

**Exemplo 14:**

Preparação de um gel contendo o gel micronizado denso com peptídeos pequenos de acordo com o Exemplo 13.

A uma solução a 1% de polímero neutralizado ativado de acordo com o Exemplo 1a, foram adicionadas microesferas do Exemplo 13. O gel foi então evaporado à metade de seu volume. Um gel homogêneo injetável e estável contendo microesferas finamente divididas foi formado.

**Exemplo 15:**

Preparação de um gel contendo esferas de polimetilmetacrilato (PMMA) esféricas tendo um tamanho de 4- -120  $\mu$ g.

A 5 g de um polímero diluído a 1% e neutralizado e ativado de acordo com o Exemplo 1a, foram adicionados 100 mg de esferas de polimetilmetacrilato (PMMA). A evaporação do gel polimérico a 3% forneceu um gel viscoelástico injetável estável.

**Exemplo 16:**

Preparação de um gel contendo fragmentos de PMMA de 500 nm, ao qual foi adicionado antígeno hidrofóbico

Antígeno de hemaglutinina, preparado a partir do vírus A2 de acordo com o Exemplo 11, foi absorvido por interação hidrofóbica em partículas de PMMA de 500 nm. As referidas partículas foram adicionadas a uma solução a 1% de acordo com o Exemplo 15 e foi efetuada uma redução para a metade do volume. Foi formado um gel viscoelástico homogêneo estável, que foi útil como uma vacina tendo um elevado efeito adjuvante.

**Exemplo 17:**

Uma comparação entre o grau de reintumescimento com disponibilidade de água livre entre géis preparados convencionalmente e géis preparados de acordo com a presente invenção

Géis de ácido hialurônico preparados de acordo com Laurent et al. 1963 e de acordo com os Exemplos 1 e 2 acima foram secados à metade de seus volumes de intumescimento. Eles foram então reintroduzidos em suas soluções originais. Os géis previamente conhecidos intumesceram a seu volume original, enquanto que as composições de gel de acordo com os presentes Exemplos 1 e 2 intumesceram apenas marginalmente (10%).

#### **Exemplo 18:**

Comparação entre a atividade biológica de EPO copolimerizada com ácido hialurônico para um gel e o gel de acordo com o Exemplo 1, no qual tinha sido encerrada EPO por uma concentração do referido gel.

Quatro pacientes sob tratamento com Eprex<sup>®</sup> (CILAG) por sua anemia causada por uremia crônica foram tratados por dois meses com uma dose a cada mês, de acordo com o regime que se segue:

| Paciente       | 1                               | 2                               | 3         | 4         |
|----------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------|-----------|
| n <sup>o</sup> |                                 |                                 |           |           |
| Dose IU        | 60.000                          | 70.000                          | 70.000    | 50.000    |
| Mês 1          | Depósito diretamente gelificado | Depósito diretamente gelificado | Controle  | Controle  |
| Mês 2          | Controle                        | Controle                        | Concentr. | Concentr. |

Depósito diretamente geleificado: reticulação de epóxido sob condições suaves de acordo com o Exemplo 11 na presença de EPO.

Controle: EPO dissolvida em ácido hialurônico a 4%, MW de cerca de  $6 \times 10^6$  de crista-de-galo preparado de acordo com a patente US 4 141 973 (Healon<sup>®</sup>Pharmacia)

Concentrado: EPO encerrada dentro de gel ativado, que foi geleificado através de concentração.

A dose foi selecionada como a dose total mensal que foi normalmente requerida pelo paciente para a manutenção do nível de hemoglobina. O nível de soro de EPO foi analisado em intervalos regulares

por meio de um processo funcional imunoquímico.

### Resultados:

- Um processo comum para expressar o efeito preparações de depósito é o de calcular a área da curva (unidades de EPO x dias). Este estudo também fornece a biodisponibilidade na forma de nível de hemoglobina no sangue como 0= retido, + = aumentado e -= reduzido.

### **Tabela**

|                         |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Paciente nº-mês         | 1/1 | ½   | 2/1 | 2/2 | 3/1 | 3/2 | 4/1 | 4/2 |
| Área sob a curva        | 41  | 424 | 57  | 534 | 224 | 952 | 567 | 656 |
| Controle de hemoglobina | -   | +   | -   | +   | 0   | +   | +   | +   |

### Conclusão:

- Um encerramento de EPO em um depósito contraído fornece a máxima liberação possível durante a análise. Tentativas para efetuar a reação de geleificação na presença de EPO destruíram os hormônios, de tal modo que uma liberação muito baixa pôde ser registrada

## REIVINDICAÇÕES

1. Processo para preparar uma composição de gel de polissacarídeo biocompatível reticulada para uso estético, não-terapêutico, caracterizado pelo fato de compreender:

- 5                   - formar uma solução aquosa de um polissacarídeo reticulável, solúvel em água;
- iniciar uma reticulação do referido polissacarídeo na presença de um agente de reticulação polifuncional para o mesmo;
- impedir estericamente a reação de reticulação de ser
- 10 terminada antes que ocorra a geleificação, sendo deste modo obtido um polissacarídeo ativado; e
- reintroduzir condições estericamente não-impedidas para o referido polissacarídeo ativado, de modo a terminar a reticulação do mesmo até um gel viscoelástico, o gel possuindo um reintumescimento inferior a
- 15 10%, em volume;
- em que o gel apresenta um teor de água de 98-99% em peso, e a concentração do referido agente de reticulação é de 0,2%.

2. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o polissacarídeo é selecionado a partir do grupo que consiste

20 de glicose amino glucanos.

3. Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que os referidos glicose amino glucanos compreendem ácido hialurônico.

4. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1

25 a 3, caracterizado pelo fato de que o agente de reticulação é selecionado a partir do grupo que consiste de epóxidos, compostos poliaziridila e éteres de glicidila.

5. Processo de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que o referido éter de glicidila compreende éter de diglicidila

1,4-butandiol.

6. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que o referido impedimento estérico da reação de reticulação compreende diluir o meio aquoso, no qual a reação de reticulação é efetuada, para alcançar uma concentração mais baixa do polissacarídeo no referido meio.

7. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que a referida reintrodução de condições estericamente não-impedidas compreende evaporar o meio aquoso, no qual a reação de reticulação é efetuada, para alcançar uma concentração mais elevada do polissacarídeo no referido meio.

8. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que a referida reintrodução de condições estericamente não-impedidas compreende a diálise do meio aquoso, no qual a reação de reticulação é efetuada.

9. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que a reação de reticulação inicial na presença de um agente de reticulação polifuncional é efetuada em um pH alcalino, preferivelmente em um pH acima de 9, sendo deste modo promovidas reações de reticulação de éter.

10. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que a reação de reticulação inicial na presença de um agente de reticulação polifuncional é efetuada em um pH ácido, preferivelmente em um pH de 2 a 6, sendo deste modo promovidas reações de reticulação de éster.

11. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que o referido impedimento estérico da reação de reticulação é efetuado antes que o referido agente de reticulação seja consumido.

12. Composição de gel de polissacarídeo biocompatível reticulada, caracterizada pelo fato de o ser sempre que preparada por um processo conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11, em que dita composição de gel exibe retida biocompatibilidade, viscoelasticidade e não intumescce quando colocada em contato com água, o gel possuindo um reintumescimento inferior a 10%, em volume.
- 5

RESUMO

“PROCESSO PARA PREPARAR UMA COMPOSIÇÃO DE GEL DE POLISSACARÍDEO BIOCOMPATÍVEL RETICULADA, E, COMPOSIÇÃO DE GEL DE POLISSACARÍDEO”.

5                   A presente invenção fornece um processo para preparar uma  
composição de gel de polissacarídeo biocompatível reticulada, que  
compreende: formar uma solução aquosa de um polissacarídeo reticulável,  
solúvel em água; iniciar uma reticulação do referido polissacarídeo na  
presença de um agente de reticulação polifuncional para o mesmo; impedir  
10   estericamente a reação de reticulação de ser terminada antes que ocorra a  
geleificação, um polissacarídeo ativado sendo obtido; e reintroduzir as  
condições estericamente impedidas para o referido polissacarídeo ativado, de  
modo a continuar a reticulação do mesmo para um gel viscoelástico. A  
invenção também fornece uma composição de gel obtível por um tal  
15   processo, assim como composições de gel para diferentes usos médicos.