(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 728 416**

(51) Int. CI.:

C08B 37/08 (2006.01)
C08J 3/28 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.06.2016 PCT/US2016/036367**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **15.12.2016 WO16200886**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.06.2016 E 16732809 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2019 EP 3307789**

(54) Título: **Polisacárido útil después de esterilización por radiación**

(30) Prioridad:

11.06.2015 US 201514736750

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.10.2019

(73) Titular/es:

MEDTRONIC XOMED, INC. (100.0%)
6743 Southpoint Drive North
Jacksonville, FL 32216-0980, US

(72) Inventor/es:

WEN, JIE;
GUENTHER, DENISE, E. y
OLIVER, DANA, A

(74) Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Polisacárido útil después de esterilización por radiación

Campo de la invención

Esta invención se refiere a polisacáridos con una vida útil mejorada para uso en aplicaciones biomédicas, incluyendo recubrimientos protectores.

Antecedentes

Los hidrogeles se utilizan a menudo después de procedimientos quirúrgicos como un recubrimiento protector biomédico para controlar el sangrado y para reducir la adhesión postquirúrgica. En determinadas aplicaciones, los hidrogeles se forman reticulando un polisacárido solubilizado y combinándolo con una segunda solución. El hidrogel puede formarse externamente o *in situ* después de la aplicación en un sitio de tratamiento. El polisacárido debe esterilizarse antes de su aplicación. La esterilización en el punto de uso no es práctica debido al nivel de actividad y a la naturaleza compleja de una instalación quirúrgica. En ese sentido, la esterilización de ambos componentes del sistema de dos componentes se aborda en la fase de envasado de los componentes. Sin embargo, la estabilidad de vida útil del polisacárido es actualmente limitada. Los polisacáridos actuales utilizados en aplicaciones de hidrogel tienen una vida útil limitada. Por ejemplo, determinados polisacáridos pueden limitarse a una vida útil de seis meses o menos, y en algunas circunstancias, cuatro meses o menos.

Sumario de la invención

Tal como se expone en esta descripción, la esterilización del polisacárido para aplicaciones biomédicas es una de las principales causas de la mala estabilidad al almacenamiento. El proceso de esterilización emplea a menudo radiación ionizante, tal como la radiación de haz de E. El proceso de radiación rompe las cadenas de ADN en los organismos vivos, tales como bacterias, lo que resulta en la muerte microbiana y en hacer que el producto sea estéril. Desafortunadamente, la radiación tiene una tendencia a afectar negativamente al polisacárido. Como resultado, pueden formarse grandes cantidades de radicales en el material que pueden conducir finalmente a la escisión de la cadena o al entrecruzamiento de la cadena. La mayoría de los radicales tienen una semivida muy corta y, por lo tanto, pueden descomponerse rápidamente. Esta descomposición dará como resultado una reducción del peso molecular del polisacárido. El menor peso molecular significa que la viscosidad se verá afectada negativamente y, por lo tanto, será más difícil formar un hidrogel. Adicionalmente, algunos radicales de larga vida pueden quedar atrapados en el polisacárido durante un período prolongado de tiempo y, posteriormente, alterar las características del material. Los radicales de larga vida pueden degradar adicionalmente el polisacárido con el tiempo y pueden provocar una reticulación, dando como resultado un material insoluble.

Esta descripción está dirigida a un polisacárido purificado y esterilizado que exhibe una vida útil mejorada y prolongada con respecto a los polisacáridos preparados convencionalmente para aplicaciones biomédicas. El polisacárido, al hidratarse y reticularse, forma un hidrogel que es funcional para muchas aplicaciones biomédicas, que incluyen, pero no se limitan a implantes quirúrgicos y como un recubrimiento protector o en tejidos y estructuras en los oídos, nariz, garganta, extremidades y columna vertebral. En la mayoría de las realizaciones es deseable una gelificación consistente del polisacárido. Cualquier inconsistencia en la formación de un hidrogel puede impactar negativamente sobre los resultados biomédicos deseados necesarios para abordar la salud del individuo sobre el cual se aplica el hidrogel.

El polisacárido se prepara separando al menos algunas impurezas de la composición que generalmente están presentes debido a su proceso de formación. El control del contenido de humedad y la exposición limitada al oxígeno también pueden ayudar a permitir una vida útil más larga. El material se seca hasta un contenido de humedad del 7% en peso o menos. El polisacárido se envasa luego en un entorno reducido en oxígeno. El polisacárido envasado se somete a un proceso de esterilización que emplea radiación ionizante. Este método da como resultado un polisacárido que exhibe una vida útil mejorada con respecto a los polisacáridos convencionales. En determinadas realizaciones, la vida útil del polisacárido se puede extender a más de nueve meses, más de un año e incluso más de dos años.

En un aspecto, se crea una composición de dos partes utilizando el polisacárido purificado y esterilizado de esta descripción. Por consiguiente, la primera parte comprende un polisacárido purificado y esterilizado y la segunda parte comprende un co-reaccionante esterilizado. Ambas partes pueden suministrarse en un envase sellado. Las dos partes, cuando están hidratadas, pueden mezclarse y reaccionar entre sí para formar una capa protectora delgada y conformacional sobre un tejido o estructura corporal.

La composición descrita puede envasarse de manera deseable en un dispensador de pulverización multicomponente con la parte que contiene polisacárido en forma seca (p. ej., en polvo o liofilizada), hidratada en el momento de su uso o cerca del mismo, y se mezcla rápidamente con la parte de co-reaccionante esterilizada adicionalmente y se aplica o utiliza en una zona objetivo deseada en un tejido corporal o estructura corporal. Las partes mezcladas son un fluido (es decir, sin gelificar) cuando la mezcla se desplaza a través del aplicador de

pulverización, y puede reaccionar y finalmente formar un gel (p. ej., en el momento en el que cae en la zona objetivo o unos pocos minutos después) o puede permanecer siendo un fluido cuando está en la zona objetivo.

La composición, la capa protectora y el método descritos son especialmente útiles para el tratamiento de tejidos de la mucosa en los oídos, nariz o garganta y aberturas, huecos, conductos o articulaciones en las extremidades o la columna vertebral. En algunas realizaciones, la composición aplicada no goteará o fluirá desde una zona objetivo a la que se ha aplicado por pulverización. Empleando un polisacárido y mezclándolo con un co-reaccionante esterilizado para formar un fluido de baja viscosidad o semi-viscoso en lugar de un gel mucho más viscoso y no rociable, se puede dispensar una composición pulverizable a través de un dispositivo de pulverización en forma fluida, aplicar a una zona objetivo para formar un fluido o solo una capa protectora gelificada recientemente, y se mantiene sustancial o completamente en su lugar en la zona objetivo.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una ilustración de un espectro de ^{1}H RMN de carboximetil-quitosano que contiene niveles de impurezas.

La Fig. 2 es una ilustración de un espectro de ^{1}H RMN de un carboximetil-quitosano purificado.

Descripción detallada

La siguiente descripción detallada describe determinadas realizaciones y no debe tomarse en un sentido limitativo. Todos los pesos, las cantidades y las proporciones en esta memoria son en peso, a menos que se indique específicamente lo contrario. Los términos y las expresiones que se muestran a continuación tienen los siguientes significados:

El término "adherencia" se refiere a la adherencia de una estructura corporal o material protésico al tejido, a la adherencia del tejido al tejido con el que está en contacto íntimo durante períodos prolongados o a la formación de tejido que conecta estructuras corporales, materiales protésicos o tejidos entre sí en un espacio normalmente abierto.

El término "antimicrobiano" se refiere a una capacidad para provocar más de un 90% de reducción numérica (es decir, al menos una reducción de orden logarítmica) en una población de uno o más de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumonía*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freudii*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, *Corynebacterium diphtheria* o *Corynebacterium tuberculostearicum.*

El término "biocompatible", cuando se utiliza en referencia a una sustancia, significa que la sustancia no presenta efectos nocivos o perjudiciales significativos en el cuerpo.

La expresión "temperatura corporal", cuando se utiliza en referencia a un mamífero, significa la temperatura rectal normal (por ejemplo, para un ser humano a aproximadamente 37°C; para un gato, vaca, perro o caballo aproximadamente 38°C; y para una oveja aproximadamente 39°C).

El término "triturado", cuando se utiliza en referencia a un material en partículas, significa que las partículas se han fracturado y reducido en tamaño mediante corte, molienda, pulverización, trituración u otro proceso de fracturación de partículas que emplea fuerza aplicada externamente.

El término "conformacional", cuando se utiliza en referencia a una composición aplicada a un tejido u otra estructura corporal, significa que la composición puede formar una capa sustancialmente continua sobre una zona a la que se ha aplicado la composición.

El término "fluido", cuando se utiliza en referencia a una sustancia, significa que la sustancia es un líquido que tiene un módulo de pérdida (G") mayor que su módulo de almacenamiento (G') y una tangente de pérdida (tan δ) mayor que 1.

El término "gel", cuando se utiliza en referencia a una sustancia, significa que la sustancia es deformable (es decir, no es un sólido), G" es menor que G' y tan δ es menor que 1.

El término "gelificación", cuando se utiliza con respecto a la formación de una capa de gel, significa el tiempo en el que G" es igual a G` y tan δ es igual a 1.

El término "hemostato" significa un dispositivo o material que detiene el flujo sanguíneo o fomenta la coagulación.

El término "hidrogel", cuando se utiliza en referencia a un gel, significa que el gel es hidrófilo y contiene agua.

El término "hidratado", cuando se utiliza en referencia a un dispositivo o sustancia, significa que el dispositivo o la sustancia contiene agua químicamente unida, uniformemente distribuida. Un dispositivo o sustancia "totalmente

hidratado" es incapaz de absorber agua de hidratación adicional. Un dispositivo o sustancia "parcialmente hidratado" es capaz de absorber agua de hidratación adicional.

El término "mucoadhesivo", cuando se utiliza en referencia a un dispositivo o sustancia, significa que el dispositivo o la sustancia se adherirá al moco que cubre los epitelios.

La expresión "cavidades nasales o sinusales" se refiere a los diversos tejidos que definen los pasajes y las cámaras normalmente llenos de aire dentro de la nariz y el seno, que incluyen, pero no se limitan a las fosas nasales o nares, la concha o los cornetes nasales, los senos frontal, etmoidal, esfenoidal y maxilar, los ostium sinusales y la nasofaringe.

La expresión "reducido en oxígeno" significa un entorno con menos de 2% de oxígeno en volumen.

El término "reticulado", cuando se utiliza en referencia a un polisacárido, significa que dos o más moléculas del polisacárido se han unido para formar un resto oligomérico o polimérico que es un fluido cuando está hidratado y que es capaz de reticular adicionalmente *in situ*.

El término "polisacárido" incluye derivados de polisacáridos y polisacáridos modificados, así como derivados de especies de especies de polisacáridos individuales y especies de polisacáridos individuales modificadas. Por ejemplo, el término "carboximetilcelulosa" incluye derivados de carboximetilcelulosa y carboximetilcelulosas modificadas, el término "quitosano" incluye derivados de quitosano y quitosanos modificados, y el término "almidón" incluye derivados de almidón y almidones modificados.

El término "protector", cuando se utiliza en referencia a una capa de una composición sobre tejido u otra estructura corporal significa que la capa puede ayudar a devolver una superficie de tejido lesionada, inflamada o reparada quirúrgicamente a un estado normal, p. ej., a través de una o más mecanismos de curación, tales como la modulación de una respuesta inflamatoria, fagocitosis, remodelación de la mucosa, la formación renovada de cilios u otra restauración total o parcial de la función normal.

La expresión "tiempo de permanencia", cuando se utiliza en referencia a una capa protectora de gel sobre un tejido u otra estructura corporal, significa el período de tiempo durante el cual la capa de gel o parte de la misma permanece en su lugar *in vivo* bajo observación general.

La expresión "vida útil" se refiere al tiempo después de la esterilización en que el polisacárido permanece viable y es capaz de formar un hidrogel tras la hidratación y sobre la mezcla y la reacción con un co-reaccionante de esterilización. En determinadas circunstancias, la vida útil de los polisacáridos de esta descripción no muestra cambio sustancial alguno en el tiempo para formar un gel después de mezclar con un co-reaccionante esterilizado.

La expresión "co-reaccionante esterilizado" significa un compuesto empleado en la segunda parte de la composición de dos partes descrita, y que permite la reticulación del polisacárido descrito.

La expresión "sustancialmente vertical", cuando se utiliza en referencia a una superficie de la piel, se refiere a una superficie cuya orientación es de 90 ± 10° con respecto a la horizontal. Esta frase no pretende implicar que las composiciones descritas se apliquen solo a superficies sustancialmente verticales o solo a superficies de la piel. Sin embargo, la solicitante ha determinado que se puede utilizar una superficie de la piel sustancialmente vertical para evaluar determinadas características reológicas de las composiciones descritas durante y rápidamente después de la aplicación de la pulverización, sin la necesidad de instrumentos complejos u otros dispositivos o técnicas de medición.

El término "delgado", cuando se utiliza en referencia a una capa protectora sobre tejido u otra estructura corporal, significa que tiene un grosor medio inferior a aproximadamente dos milímetros.

Esta descripción está dirigida a potenciar la vida útil de determinados biomateriales y, en particular, los polisacáridos, después de la esterilización. Los polisacáridos convencionales exhiben generalmente una vida útil limitada después de la esterilización de típicamente menos de seis meses y algunos incluso de menos de cuatro meses. Las características comunes de los polisacáridos preparados convencionalmente que indican una vida útil limitada incluyen una pérdida de viscosidad después de la esterilización y el desarrollo de materiales insolubles. Un polisacárido producido de acuerdo con el método de esta descripción exhibe una degradación y pérdida de viscosidad reducidas y, como resultado, es capaz de lograr una mayor vida útil, p. ej., más de nueve meses. En determinadas realizaciones, la vida útil del polisacárido puede exceder de un año, dieciocho meses o incluso dos años.

El método descrito aborda la pérdida de viscosidad a lo largo del tiempo y el desarrollo de materiales insolubles durante el almacenamiento. El método incluye separar al menos algunas impurezas del polisacárido. Luego, el material se seca hasta un contenido de humedad del 7% en peso o menos y se envasa en un entorno reducido en oxígeno. El polisacárido se esteriliza luego con radiación ionizante.

Se puede emplear una amplia diversidad de polisacáridos o sus derivados en el método, la composición y la capa protectora descritos. Ejemplos no limitantes de polisacáridos incluyen alginatos, carragenanos, celulosas (por ejemplo, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa), quitinas, quitosanos, carboximetil-quitosano, quitosano succinamida, sulfatos de condroitína, dextranos, galactomananos, glicógenos, ácidos hialurónicos, almidones, heparina y otros derivados de polisacáridos biocompatibles y mezclas de los mismos.

Determinadas realizaciones utilizan quitosano (incluyendo sales y otros derivados de quitosano) como los polisacáridos. Se pueden obtener quitosanos a modo de ejemplo y sus sales (incluidas las sales citrato, nitrato, lactato, fosfato, cloruro y glutamato) de una diversidad de fuentes comerciales que incluyen KitoZyme S.A., Fluka Chemie AG, la unidad NovaMatrix de FMC BioPolymer AS, Heppe Medical y Sigma-Aldrich Co. Quitosano también se puede sintetizar mediante la eliminación de grupos N-acetilo a través de la desacetilación de quitina (poli-N-acetil-D-glucosamina) por hidrólisis. El oligómero o polímero resultante tiene una pluralidad de unidades repetitivas (p. ej., aproximadamente 2 a aproximadamente 10.000 unidades repetitivas, aproximadamente 60 a aproximadamente 600 unidades repetitivas, o cualquier otra cantidad que pueda desearse para el uso final elegido). Algunas o todas las unidades repetitivas contendrán grupos amino desacetilados (p. ej., aproximadamente 30 a aproximadamente 100% o aproximadamente 60 a aproximadamente 100% de las unidades repetitivas totales), conteniendo las restantes unidades repetitivas (si existen) grupos amino acetilados.

Quitosano es un polímero catiónico compuesto de monómeros de glucosamina, y puede tener una diversidad de pesos moleculares medios numéricos, p. ej., aproximadamente 400 a aproximadamente 2000 kDa, aproximadamente 10 a aproximadamente 500 kDa o aproximadamente 10 a aproximadamente 100 kDa. El quitosano puede ser, por ejemplo, un material de peso molecular ultrabajo que tiene un peso molecular medio numérico inferior a aproximadamente 50 kDa, un material de bajo peso molecular que tiene un peso molecular medio numérico de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 kDa, un material de peso molecular medio que tiene un número peso molecular medio numérico de aproximadamente 200 a aproximadamente 500 kDa o un material de alto peso molecular que tiene un peso molecular medio numérico mayor que aproximadamente 500 kDa.

También se pueden emplear derivados de quitosano. Ejemplos no limitativos de derivados incluyen aquellos en los que uno o más grupos hidroxilo o amino del quitosano se han modificado con el propósito de alterar las características de solubilidad o mucoadhesión del derivado. Derivados a modo de ejemplo incluyen quitosanos tiolados y derivados de quitosano no tiolados, tales como carboximetilo, quitosanos acetilados, alquilados o sulfonados (por ejemplo, O-alquiléteres, ésteres O-acílicos, trimetilquitosanos cationizados y quitosanos modificados con polietilenglicol). Derivados de quitosano se pueden obtener de una diversidad de fuentes. Por ejemplo, los quitosanos tiolados se pueden obtener de ThioMatrix Forschungs Beratungs GmbH y Mucobiomer Biotechnologische Forschungs- und Entwicklungs GmbH o se pueden preparar por reacción de quitosano con un reaccionante tiolante adecuado.

Muchos de los polisacáridos capaces de formar un hidrogel contienen diversos niveles de impurezas, en gran parte debido a los procedimientos de fabricación utilizados para preparar las composiciones. Las impurezas pueden incluir un compuesto organohaluro, un ácido glicólico o una sal o éster del mismo, o una sal inorgánica. Las impurezas pueden tener un impacto en el polisacárido después de la esterilización. Por ejemplo, la presencia de determinadas impurezas puede actuar como plastificantes y, por lo tanto, aumentar la movilidad del polisacárido. Esto puede conducir a una reticulación adicional del polisacárido durante el almacenamiento. El método de esta descripción utiliza al menos una de filtración, diálisis de membrana o precipitación para separar al menos una parte de las impurezas del polisacárido. Los expertos ordinarios en la técnica con conocimiento de esta descripción son capaces de seleccionar un método de purificación apropiado, o una combinación de métodos, en base a un polisacárido seleccionado y al nivel aceptable de impurezas para prevenir una reticulación adicional del polisacárido en el almacenamiento.

En determinadas realizaciones, el nivel de impurezas en el polisacárido puede detectarse utilizando la espectroscopia de ^{1}H RMN. La separación de al menos una parte de impurezas por filtración, diálisis de membrana, precipitación o combinaciones de las mismas puede dar como resultado una relación de integración, de acuerdo con la espectroscopia de ^{1}H RMN, de 1 o menos. Para los fines de esta descripción, la relación de integración se determina por el valor de un pico a aproximadamente δ 3,92 ppm a δ 3,94 ppm a un valor de un pico de referencia de aproximadamente δ 4,5 ppm. La región entre δ 3,92 ppm y δ 3,94 ppm es una indicación de la contaminación por parte de compuestos tales como el ácido cloroacético y más a menudo el ácido glicólico. Una ausencia de picos nítidos de δ 3,92 ppm a δ 3,94 es un indicador de una separación sustancial o completa de las dos impurezas señaladas. El pico en δ 4,5 ppm se asigna al protón en la posición 1-C, el cual se utiliza como referencia para la relación de integración. En una realización, carboximetil-quitosano, antes de cualquier purificación, puede exhibir una relación de integración de aproximadamente 5,03. Una versión purificada de carboximetil-quitosano puede tener una relación de integración de menos de 0,7.

La Fig. 1 es una ilustración de un espectro de ^{1}H RMN de carboximetil-quitosano antes de la purificación. El pico 10 en el intervalo de δ 3,92 ppm a δ 3,94 indica la presencia de ácido cloroacético o ácido glicólico. La relación de integración, calculada utilizando el pico 10 en el intervalo de δ 3,92 ppm a δ 3,94 en relación con el pico 20 a δ 4,5 ppm, es de aproximadamente 4,65.

La Fig. 2 es una ilustración de un espectro de ^{1}H RMN de carboximetil-quitosano purificado utilizando la diálisis de membrana. El pico 30 en el intervalo de δ 3,92 ppm a δ 3,94 indica la presencia de al menos algo de ácido cloroacético o ácido glicólico. La relación de integración calculada utilizando el pico 30 en el intervalo de δ 3,92 ppm a δ 3,94 en relación con el pico 40 a δ 4,5 ppm es de aproximadamente 0,59.

Se puede emplear el secado en el método de esta descripción para eliminar la humedad del polisacárido. La presencia de humedad durante la esterilización subsiguiente con radiación ionizante puede degradar el polisacárido debido a una o más reacciones tales como fragmentación, hidrólisis o reordenamiento. El secado del polisacárido puede incluir liofilización, secado por convección, secado en vacío o una combinación de los mismos. La forma real del secado puede seleccionarse basándose en el proceso de purificación utilizado en una etapa anterior. Por ejemplo, la purificación de un polisacárido con diálisis de membrana producirá una forma al menos parcialmente purificada del material en solución. Un experto ordinario en la técnica reconocerá que la liofilización es un método de secado muy adecuado para recuperar el polisacárido en forma sólida de la solución para su uso posterior. El contenido de humedad del polisacárido después del secado es inferior a 7% en peso. En otras realizaciones, el contenido de humedad del polisacárido es inferior a 5% en peso, inferior a 3% en peso o incluso inferior a 1% en peso.

El polisacárido en forma de partículas secas puede modificarse adicionalmente para permitir una hidratación oportuna en el punto de aplicación. En diversas realizaciones, el polisacárido puede triturarse. Por ejemplo, las partículas pueden fracturarse y reducirse de tamaño mediante corte, molienda, pulverización, trituración u otro proceso de fracturación de partículas empleando fuerzas aplicadas externamente. De manera deseable, el polisacárido se proporciona en forma de partículas secas, por ejemplo, en forma de gránulos libremente fluyentes, cuyo diámetro medio de partícula es inferior a aproximadamente 1 mm, inferior a aproximadamente 100 µm, de aproximadamente 1 a aproximadamente 80 µm, o inferior a 1 µm.

La degradación oxidativa de los polisacáridos a lo largo del tiempo es otro factor que puede reducir la vida útil del polisacárido. Los radicales inducidos por radiación que están atrapados en los dominios semi-cristalinos pueden sufrir una reacción en cadena oxidativa a través de un mecanismo de radical peróxido que conduce a la degradación. La reacción en cadena puede prolongarse durante días o incluso meses. Dicha degradación debida al oxígeno durante la post-esterilización y el almacenamiento se puede abordar envasando el polisacárido en un entorno reducido en oxígeno. El polisacárido en forma de polvo se coloca en un recipiente, tal como una jeringa, vial u otro recipiente capaz de permitir la posterior hidratación. El recipiente también puede sellarse adicionalmente en una envoltura polimérica para limitar aún más la penetración y la exposición al oxígeno. Los expertos ordinarios en la técnica con conocimiento de esta descripción reconocerán que otros métodos convencionales de envasado que utilizan una purga de un gas inerte pueden ser adecuados para crear un entorno reducido en oxígeno.

El polisacárido purificado que tiene un contenido de humedad reducido y se envasa en un entorno reducido en oxígeno se esteriliza utilizando radiación ionizante. Se puede emplear una diversidad de fuentes de esterilización por radiación ionizante, que incluyen radiación gamma, luz ultravioleta, rayos X y radiación de haz de E. La radiación de haz de E puede ser especialmente deseable debido, en parte, a la rápida velocidad a la que se puede realizar, con ciclos de esterilización típicos que generalmente se completan en una forma de minutos (p. ej., dos ciclos de cinco minutos). Los rayos X pueden ser preferidos para aplicaciones en las que se requiere mayor poder de penetración que el proporcionado por la radiación de haz de E. También se pueden emplear la radiación ultravioleta y la radiación gamma, pero ésta puede estar contraindicada en algunos casos debido, en parte, al mayor grado de degradación del polímero que puede provocar la radiación ultravioleta o gamma y en el caso de radiación gamma debido a que pueden ser necesarios ciclos de esterilización mucho más largos (p. ej., varias horas o más). Adicionalmente, se puede emplear la esterilización por radiación ionizante en frío (p. ej., la esterilización por haz de E en frío), tal como la que se describe en la patente de EE. UU. Nº 8.653.319, incorporada en esta memoria como referencia en su totalidad.

El polisacárido preparado de acuerdo con el método de esta descripción exhibe una vida útil mejorada. El método de esta descripción se basa en el descubrimiento de que determinadas impurezas en el polisacárido, la humedad y el oxígeno pueden provocar una reticulación continua después de la esterilización y, con ello, afectar adversamente la viabilidad del polisacárido a lo largo del tiempo. Para los fines de esta descripción, la vida útil se refiere al tiempo después de la esterilización en que el polisacárido permanece siendo viable y es capaz de formar un hidrogel tras la hidratación y tras la mezcla y reacción con un co-reaccionante esterilizado. En determinadas realizaciones, el polisacárido exhibe una vida útil superior a nueve meses. En otras realizaciones, el polisacárido exhibe una vida útil superior a un año, superior a dieciocho meses, o incluso superior a 2 años. La vida útil mejorada es una ganancia significativa frente a los polisacáridos convencionales utilizados en aplicaciones de hidrogel biomédico.

Una medida cuantitativa para una vida útil mejorada de un polisacárido puede incluir una medida de la reducción, o cambio, de la viscosidad de un polisacárido hidratado a lo largo del tiempo. El Método de Ensayo de la Viscosidad recogido en la sección de Ejemplos de esta descripción es un ensayo capaz de demostrar que el método de esta descripción da como resultado un polisacárido que tiene una vida útil mejorada. De acuerdo con el Método de Ensayo, el polisacárido de esta descripción exhibe una reducción en la viscosidad de menos de 50% después de ser conservado durante nueve meses a temperatura ambiente. En algunas realizaciones, el polisacárido de esta

descripción exhibe una reducción de la viscosidad de menos del 25%, menos del 10% o menos del 5% bajo el Método de Ensayo de la Viscosidad.

Otra medida adecuada para la mejora de la vida útil del polisacárido es la utilización del análisis gravimétrico térmico para determinar el cambio en el contenido de sólidos del polisacárido a lo largo del tiempo. Este procedimiento puede detectar si se ha producido una reticulación del polisacárido a lo largo del período de almacenamiento. El procedimiento para la medición del Porcentaje de Sólidos mediante análisis gravimétrico térmico se recoge en la sección de Ejemplos de esta descripción. De acuerdo con el Método de Ensayo, un polisacárido resultante del método de esta descripción exhibe menos de un 50% de cambio en el contenido de sólidos del polisacárido después de haber sido conservado durante nueve meses a temperatura ambiente. En algunas realizaciones, el polisacárido exhibe menos de un 25% de cambio en el contenido de sólidos, menos de un 10% de cambio en el contenido de sólidos, o incluso menos de un 5% de cambio en el contenido de sólidos.

El polisacárido de esta descripción es adecuado para formar una composición de dos partes, comprendiendo la primera parte un polisacárido esterilizado producido por el método de esta descripción en un envase sellado y comprendiendo la segunda parte un co-reaccionante esterilizado en un envase sellado. Cuando se hidratan, las dos partes pueden ser fluidos rociables que se pueden suministrar a través de un aplicador de rociado y que reaccionarán entre sí para proporcionar un fluido de capa protectora delgada, conformacional y que no gotea sobre un tejido o estructura corporal. Las dos partes pueden hidratarse, mezclarse y hacerse reaccionar utilizando instrumentos convencionales tales como los que se describen en la Patente de EE.UU. Nº 8.530.632, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

La segunda parte de la composición de dos partes, el co-reaccionante esterilizado, fomenta la reticulación en el polisacárido. Agentes esterilizados a modo de ejemplo incluyen genipina, un polisacárido oxidado tal como almidón oxidado o dextrano, o glutaraldehído, u otros reactivos que contienen múltiples grupos aldehído. La cantidad de agente esterilizado puede variar ampliamente dependiendo del polisacárido elegido y del co-reaccionante esterilizado.

Cuando se utiliza un polisacárido oxidado como el co-reaccionante esterilizado, el polisacárido puede oxidarse hasta un grado suficiente para proporcionar grupos aldehído capaces de reticular el polisacárido purificado y esterilizado. Si se desea, el polisacárido se puede oxidar en un grado diferente (p. ej., uno mayor) y se puede realizar un ajuste (p. ej., un aumento) en la cantidad de polisacárido. En determinadas aplicaciones, la reticulación del polisacárido se completa sustancialmente en unos pocos minutos o segundos (p. ej., menos de 5 minutos, menos de 2 minutos, menos de 1 minuto o menos de 30 segundos) después de mezclar con el co-reaccionante esterilizado.

Se puede emplear una amplia diversidad de polisacáridos oxidados, incluyendo alginatos oxidados, carragenanos, celulosas (p. ej., hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa), quitinas, sulfatos de condroitina, dextranos, galactomananos, glicógenos, ácidos hialurónicos, almidones y otros polisacáridos biocompatibles susceptibles de ser oxidados. Se prefieren especialmente polisacáridos oxidados tales como celulosa oxidada (p. ej., los arriba mencionados), quitina, sulfato de condroitina, dextrano, glucógeno, ácido hialurónico y almidón. Agentes oxidantes representativos o técnicas para preparar polisacáridos oxidados incluyen el uso de a) peryodato de sodio, b) ion hipoclorito en presencia de catalizadores de di-terc.-alquilnitroxilo, c) oxidación catalizada por metales, utilizando, por ejemplo, rutenio, d) oxidación anhidra utilizando, por ejemplo, dióxido de nitrógeno en, por ejemplo, un halocarburo, e) oxidación enzimática o quimio-enzimática de almidón, guar y otros polisacáridos, f) oxidación catalizada por 2,2,6,6-tetrametilpìperidina-1-oxilo (TEMPO) con oxidantes suaves, tales como dimetilsulfóxido (DMSO) o diacetoxiyodobenceno, y otros agentes y técnicas de oxidación que serán conocidos por personas con una experiencia ordinaria en la técnica.

En algunas realizaciones, el co-reaccionante esterilizado se puede secar y purificar de una manera similar a la utilizada para secar y purificar el polisacárido. De manera similar al polisacárido de esta descripción, el secado, la purificación del co-reaccionante esterilizado junto con el envasado del material en un entorno reducido en oxígeno puede abordarse antes de la esterilización.

Dependiendo del agente o técnica oxidante seleccionados, se puede utilizar una diversidad de grados de oxidación, grados de polimerización y sitios de oxidación. Por ejemplo, la oxidación puede dirigirse a un grupo hidroxilo primario (por ejemplo, el grupo 6-hidroxilo en las unidades de anhidroglucosa de glucanos), dando como resultado carboxil-polisacáridos con estructuras de anillo conservadas. La oxidación también puede dirigirse a una función diol vecina presente en un anillo de monosacárido (por ejemplo, el sitio C2-C3 en unidades de anhidroglucosa), dando como resultado la escisión de las unidades de monosacárido y la producción de grupos funcionales dialdehído. El contenido de dialdehído de un polisacárido oxidado de este tipo puede variar desde un grado de oxidación de, por ejemplo, 2 % a virtualmente 100 %, p. ej., más del 30 % o más del 50 % de los sitios de oxidación disponibles. El polisacárido oxidado también puede contener otros grupos funcionales, por ejemplo grupos hidroxialquilo, grupos catiónicos, grupos carboxilo y otros grupos ácidos. Como una generalización, se pueden emplear cantidades reducidas de polisacárido oxidado como un co-reaccionante a medida que aumenta el grado de oxidación del polisacárido.

El polisacárido, y el co-reaccionante esterilizado, normalmente se hidratarán justo antes de mezclar las dos partes y colocar la mezcla fluida resultante en un sitio de tratamiento. La hidratación se puede llevar a cabo disolviendo el polisacárido en agua o en una solución acuosa que contenga cualquier otro ingrediente deseado. Por ejemplo, la solución salina normal y la solución salina tamponada con fosfato (PBS) son soluciones de hidratación preferidas y fácilmente disponibles. La cantidad de polisacárido en la solución hidratada puede depender, en parte, del peso molecular del polisacárido, y puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 % o de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 %, basándose en el peso de la solución. Adicionalmente, la concentración molar del polisacárido esterilizado en solución puede estar, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 2 % a 5 %.

El polisacárido y el co-reaccionante esterilizado se pueden combinar, por ejemplo, en una relación molar de aproximadamente 20:1 a aproximadamente 1:20, de aproximadamente 10:1 a aproximadamente 1:10, de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 1:10, de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 1:5 o de aproximadamente 20:1. Una vez que se hayan mezclado la primera y la segunda partes, una reacción de reticulación se completa sustancialmente en unos pocos minutos (p. ej., menos de 5 minutos, menos de 3 minutos, menos) después de 2 minutos o menos de 1 minuto) después del inicio de la mezcladura, produciendo una capa protectora inicialmente fluida que, de manera deseable, no goteará o se perderá desde un área objetivo en una superficie de piel vertical de temperatura corporal.

La composición aplicada puede llenar el sitio de tratamiento (p. ej., una cavidad nasal o sinusal, o una abertura, rebaje, pasaje o articulación en una porción de las extremidades o de la columna vertebral), en cuyo caso la capa protectora descrita puede ser muy gruesa con diferentes grosores a lo largo de la capa y no está expuesto al aire u otros gases cercanos. La composición descrita también puede aplicarse como una película delgada u otro revestimiento conformacional, en cuyo caso la capa protectora descrita puede ser relativamente delgada y estar expuesta al aire u otros gases cercanos, y con un grosor sustancialmente uniforme a lo largo de la capa. La capa protectora formará deseablemente un gel o un sólido.

La capa protectora se adhiere de manera deseable a la mucosa u otros tejidos naturales (p. ej., cartílago o hueso) en el sitio de tratamiento y resiste el desprendimiento u otra interrupción hasta que tenga lugar la degradación natural o la reabsorción de la capa, p. ej., después de un tiempo de permanencia in vivo de uno a unos pocos (p. ej., 2, 3 o 4) días, semanas o meses. Mientras tanto, la recolonización o reinfección bacteriana puede reducirse o prevenirse significativamente, y puede tener lugar una mejora en la curación y la formación renovada de cilios.

La capa protectora puede proporcionar diversas ventajas terapéuticas que incluyen, pero no se limitan a repelencia a la adhesión bacteriana, propiedades antiinfecciosas, modulación inmune local, protección del tejido, reducción o eliminación del dolor o sangrado, reducción de la inflamación, optimización del entorno para el crecimiento renovado ciliar, reducción de adherencias a la anatomía crítica, y similares. Estas ventajas pueden surgir debido a una diversidad de mecanismos que incluyen a) matar bacterias, b) inhibir la colonización bacteriana, c) inhibir la adherencia de bacterias al tejido, d) reducir la morbilidad tisular o la formación de abscesos, e) reducir o prevenir la recurrencia de la enfermedad (por ejemplo, reduciendo específicamente la inflamación crónica relacionada con la toxina bacteriana y EPS), f) recubrir y proteger el tejido durante la curación, tal como mediante el mantenimiento de una herida húmeda que fomenta la agregación plaquetaria, o mediante el cierre de una herida seca sin formación escabrosa excesiva, g) hemostasia, h) optimizar el entorno para la formación renovada de cilios de la mucosa, i) acelerando el crecimiento o crecimiento renovado de los cilios y j) entrega de agente o agentes terapéuticos al sitio de tratamiento. De manera deseable, la capa protectora se adherirá a una parte de la mucosa mientras que deja libres a los cilios en partes no adheridas a que sufran un movimiento rítmico natural (es decir, golpeo de los cilios), si se desea, también suministrarán agentes antimicrobianos o agentes terapéuticos adicionales, y de manera deseable desalentarán a o evitarán que las bacterias se adhieran al sitio de tratamiento.

La composición descrita puede incluir opcionalmente una diversidad de otros ingredientes antes o después de la hidratación. Otros ingredientes a modo de ejemplo incluyen disolventes no acuosos, ácidos, bases, agentes tampón, agentes antimicrobianos, agentes terapéuticos y otros adyuvantes. Un ácido, base o agente tampón puede, por ejemplo, mantener la composición, la capa protectora o ambas a un pH apropiado para ponerse en contacto con el tejido humano, p. ej., un pH mayor que 4.5, un pH casi neutro o un pH menor que 8,5. Agentes tampón a modo de ejemplo incluyen barbitona sódica, glicinamida, glicina, cloruro de potasio, fosfato de potasio, hidrógeno-ftalato y potasio, acetato de sodio, citrato de sodio, fosfato de sodio y sus ácidos conjugados.

De manera deseable, las composiciones descritas son inherentemente antimicrobianas sin requerir la adición de un agente antimicrobiano separado. La actividad antimicrobiana en las composiciones que contienen quitosano puede verse influida por la proporción de quitosano o derivados de quitosano en la composición (con mayores proporciones que tienden a proporcionar una mayor actividad antimicrobiana) y por el número de grupos amina de quitosano disponibles. En cualquier caso, si se desea, se puede emplear un agente antimicrobiano separado.

Agentes terapéuticos a modo de ejemplo que pueden emplearse en las composiciones descritas incluyen cualquier material adecuado para uso en el sitio de tratamiento previsto, incluyendo analgésicos, anticolinérgicos, agentes antifúngicos, antihistamínicos, agentes antiinflamatorios esteroides o no esteroides, agentes anti-parasitarios, agentes antivíricos, composiciones bioestáticas, agentes quimioterapéuticos/antineoplásicos, citoquinas,

descongestivos, agentes hemostáticos (p. ej., trombina), inmunosupresores, mucolíticos, ácidos nucleicos, péptidos, proteínas, esteroides, vasoconstrictores, mezclas de los mismos y otros materiales terapéuticos que serán conocidos por los expertos en la técnica.

Otros adyuvantes que pueden incluirse en las composiciones descritas incluyen tintes, pigmentos u otros colorantes; indicadores; agentes aromatizantes o edulcorantes que incluyen, pero no se limitan a aceite de anís, cereza, aceite de canela, aceite de cítricos, cacao, eucalipto, hierbas aromáticas, lactosa, maltosa, mentol, aceite de menta piperita, sacarina, ciclamato de sodio, aceite de menta, sorbitol, sacarosa, vanilina aceite de gaulteria, xilitol y mezclas de los mismos; antioxidantes; agentes antiespumantes; y modificadores de la reología incluyendo espesantes y tixotropos. De manera deseable, las composiciones descritas no contienen ingredientes que potencialmente puedan dañar los tejidos o estructuras de la mucosa, p. ej., tejidos en las cavidades nasales o sinusales.

La invención se ilustra adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitativos.

Ejemplos

Procedimientos de ensayo

Ensayo de Caracterización de Impurezas: Se utilizó espectroscopía de ^{1}H RMN para caracterizar la separación de impurezas de un polisacárido. La medición por ^{1}H RMN se realizó en un espectrómetro Varian MR-400 (Varian, Inc, Palo Alto, CA) a 70°C utilizando un enfoque clásico de ^{1}H RMN con eliminación parcial de un pico HOD. Las secuencias utilizadas para medir los espectros se enumeran en la siguiente Tabla 1:

Comando	^{1}H RMN
NS	16
Rg	128
P1	3 us@-3 db
Sw	5,5 ppm
O1p	4,71 ppm
Td	8 k
D1	1 s
Temperatura	343 K

Se determinó una relación de integración ($I_{3,9}/I_{4,5}$) a partir de los espectros resultantes utilizando la región entre δ 3,92 ppm y δ 3,94 ppm asociada con determinadas impurezas tales como el ácido glicólico y la región de 4,5 ppm asociada con el protón asignado en la posición 1-C.

Ensayo de Medición de la Viscosidad: La muestra de un polisacárido se preparó colocando una solución de 1 ml de carboximetil quitosano en solución salina en tubos Eppendorf de 1,5 ml. Los tubos se insertaron en una centrífuga y se hizo funcionar a 13000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se recuperó para medir la viscosidad utilizando un reómetro AR1000 (TA Instruments, LTD, New Castle, DE). El reómetro se utilizó con una placa SST de 40 mm y a una temperatura de 25°C. La configuración del reómetro incluía: fuerza normal a 5.000 N, tolerancia a la fuerza normal a 1.000 N, límite inferior de cambio de hueco a 100 um, límite superior de cambio de hueco hasta a 100 um, y hueco cero. Se utilizaron aproximadamente 1,4 mL de sobrenadante para la muestra. La viscosidad se registró a una velocidad de 20/s.

Medición del Porcentaje de Sólidos: El porcentaje de sólidos del polisacárido se midió mediante análisis termogravimétrico para caracterizar la solubilidad de un polisacárido. Se obtuvo un sobrenadante de un polisacárido de la manera utilizada para el Ensayo de Medición de la Viscosidad. El TGA Q500 (TA Instruments, LTD, New Castle, DE) se utilizó para testar 50 microlitros del sobrenadante. El material se colocó en la máquina. La velocidad de rampa se estableció en 20°C por minuto hasta una temperatura máxima de 160°C. Las isotermas se calcularon cada 5 minutos. Luego se generó un porcentaje de lectura de sólidos.

Ensayo de Tiempo de Gelificación: El tiempo de gelificación se determinó llenando una jeringa de 3 mL con 1 ml de carboximetil quitosano y otra jeringa de 3 mL con 1 mL de solución de almidón. Las jeringas se instalaron luego en un soporte de jeringa y se conectaron a un pulverizador Micromedics SA-3652 (Micromedics, Inc., St Paul, MN). Las soluciones se rociaron en un recipiente abierto de pesaje de 4" utilizando aire comprimido de 6 psi. El temporizador

se inició cuando todas las jeringas estaban vacías. La mezcla de la solución se agitó horizontalmente y se registró el tiempo de gelificación hasta que el gel dejó de fluir.

Ejemplo 1 y Ejemplo Comparativo 1

Para el ejemplo 1, se adquirió carboximetil quitosano (CMC) de HMC+ (Halle, Alemania). Se disolvió una muestra de 20 gramos de CMC en 800 ml de agua desionizada bajo agitación mecánica. Una vez completada la disolución, la solución se colocó en una membrana de diálisis Spectra/Por (1600 ml, MWCO:3500, Spectrum Laboratories, Inc., Rancho Dominguez, CA). La diálisis se realizó en un recipiente de 40 L frente a agua desionizada durante 20 horas. El agua se cambió 4 veces durante las primeras 4 horas. La solución dializada se liofilizó luego, se secó en vacío a 55°C y se molió en un polvo con un molinillo de café. El contenido de humedad del CMC fue de aproximadamente 3 % en peso. Una parte del CMC se retiró y se sometió al Ensayo de Caracterización de Impurezas. El CMC purificado y esterilizado exhibía una relación de integración de 0,59. El resto del CMC fue introducido en una jeringa de 3 mL y colocado en una bolsa de aluminio. La bolsa se selló después de purgar con nitrógeno 3 veces. Se determinó que el nivel de oxígeno en la bolsa era del 0 % utilizando un Headspace Oxygen/Carbon Dioxide Analyzer 6600 (Illinois Instruments, Johnsburg, IL). El polvo de CMC envasado se esterilizó en un Beam One LLC (San Diego, CA) usando radiación de haz de E a un valor objetivo de 25 kgy. El Ejemplo se repitió para crear suficientes envases de CMC para realizar ensayos a intervalos de 0, 2, 4, 6 y 24 meses.

Después de cada uno de los períodos de almacenamiento predeterminados, el CMC del Ejemplo 1 se hidrata luego para el ensayo. El CMC esterilizado se unió con otra jeringa llena con 3 mL de solución salina utilizando un conector de jeringa. El CMC y la solución salina se mezclaron transfiriendo los materiales de un lado a otro entre jeringas. El aire fue eliminado periódicamente al desconectar el conector de la jeringa y expulsar el aire de la jeringa con el émbolo.

El Ejemplo Comparativo 1 se produjo de la misma manera que en el Ejemplo 1, con la excepción de que la solución no se sometió a filtración con una membrana de diálisis antes de la liofilización. El contenido de humedad del CMC en el Ejemplo Comparativo 1 fue de aproximadamente el 10 % en peso. Adicionalmente, el Ejemplo Comparativo 1 se envasó sin una purga de nitrógeno. De la misma manera que en el Ejemplo 1, el Ejemplo Comparativo 1 se repitió para crear suficientes paquetes de CMC para realizar ensayos a intervalos de 0, 2, 4, 6 y 24 meses.

El Ejemplo 1 y el Ejemplo Comparativo 1 se sometieron cada uno al Ensayo del Tiempo de Gelificación, el Ensayo de Medición de la Viscosidad y la Medición de Porcentaje de Sólidos. Los resultados para cada uno de los ensayos se enumeran en la Tabla 2. El CMC purificado y esterilizado del Ejemplo 1 no mostró cambios sustanciales en el Tiempo de Gelificación, mientras que el Ejemplo Comparativo 1 exhibe un aumento en el Tiempo de Gelificación en un factor superior a 4. El Ejemplo 1 también exhibió un pequeño cambio en la viscosidad a lo largo del tiempo, mientras que el Ejemplo Comparativo 1 mostró una amplia variación. El cambio en el contenido en sólidos del Ejemplo 1 fue inferior al 50 %.

Tabla 2

Condiciones		**Ejemplo Comparativo 1**	**Ejemplo 1**
0 meses	Tiempo de Gelificación (s)	13	5
	Viscosidad (Pa s)	0,16	0,48
	Porcentaje de sólidos (%)	3,4	3,5
2 meses	Tiempo de Gelificación (s)	33	7
	Viscosidad (Pa s)	0,048	0,46
	Porcentaje de sólidos (%)	3,4	3,5
4 meses	Tiempo de Gelificación (s)	39	5
	Viscosidad (Pa s)	0,053	0,45
	Porcentaje de sólidos (%)	3,3	3,6
6 meses	Tiempo de Gelificación (s)	47	6
	Viscosidad (Pa s)	0,048	0,46
	Porcentaje de sólidos (%)	3,1	3,6

24 meses	Tiempo de Gelificación (s)	57	5
	Viscosidad (Pa s)	0,058	0,42
	Porcentaje de sólidos (%)	1,6	3,6

Aunque las realizaciones específicas se han ilustrado y descrito en esta memoria con el propósito de describir las realizaciones preferidas, los expertos ordinarios en la técnica apreciarán que una amplia diversidad de implementaciones alternativas o equivalentes calculadas para lograr los mismos propósitos pueden ser sustituidas por las realizaciones específicas mostradas y descritas.

REIVINDICACIONES

1. Un método de producir un polisacárido purificado envasado en un entorno reducido en oxígeno, comprendiendo el método:

(a) proporcionar un polisacárido,

(b) separar al menos algunas impurezas del polisacárido para obtener una relación de integración de 1 o menor, en donde la relación de integración es capaz de ser evaluada utilizando espectroscopía de ^{1}H RMN al comparar un valor de un pico a δ 3,92 ppm hasta δ 3,94 ppm con un valor de un pico de referencia de aproximadamente δ 4,5 ppm,

(c) secar el polisacárido hasta un contenido en humedad de 7% en peso o menos,

(d) envasar el polisacárido en menos de 2% de oxígeno en volumen, y

(e) esterilizar el polisacárido con radiación ionizante; en el que

el polisacárido esterilizado es soluble y tiene menos de un 50% de cambio en el contenido en sólidos después de nueve meses, según se mide utilizando la Medición del Porcentaje de Sólidos.

2. Una composición que comprende un polisacárido purificado envasado en un entorno reducido en oxígeno de menos de 2% de oxígeno en volumen, preparada por el método al que se alude en la reivindicación 1, en donde el polisacárido purificado tiene un contenido en humedad de 7% en peso o menos, se esteriliza utilizando radiación ionizante y el polisacárido purificado tiene menos de un 50% de cambio en el contenido en sólidos después de nueve meses, según se mide utilizando la Medición del Porcentaje de Sólidos.

3. Una composición para uso en el tratamiento de un tejido o estructura del cuerpo, siendo dicha composición producida por un método que comprende:

(a) proporcionar una composición de dos partes, comprendiendo la primera parte el polisacárido purificado de la reivindicación 2 y comprendiendo la segunda parte un co-reaccionante esterilizado en un envase sellado,

(b) hidratar las dos partes, y

(c) hacer reaccionar las dos partes entre sí para formar un gel que es capaz de ser aplicado a un tejido o estructura del cuerpo.

4. El método según la reivindicación 1, la composición según la reivindicación 2 o la composición para uso según la reivindicación 3, en donde el polisacárido purificado tiene un cambio en la viscosidad de menos de 50% después de nueve meses según se mide utilizando el Ensayo de Medición de la Viscosidad.

5. El método según la reivindicación 1, la composición según la reivindicación 2 o la composición para uso según la reivindicación 3, en donde el polisacárido purificado tiene un cambio en el contenido en sólidos de menos de 25% después de nueve meses según se mide utilizando la Medición del Porcentaje de Sólidos.

6. El método según la reivindicación 1, la composición según la reivindicación 2 o la composición para uso según la reivindicación 3, en donde se han separado al menos algunas impurezas del polisacárido purificado por filtración, diálisis de membrana o precipitación.

7. El método según la reivindicación 1, la composición según la reivindicación 2 o la composición para uso según la reivindicación 3, en donde las impurezas separadas del polisacárido purificado incluyen un compuesto de organohaluro, un ácido glicólico o una sal o éster del mismo, o una sal inorgánica.

8. El método según la reivindicación 1, la composición según la reivindicación 2 o la composición para uso según la reivindicación 3, en donde el polisacárido purificado tiene una vida útil a temperatura ambiente mayor que 18 meses.

9. El método según la reivindicación 1, la composición según la reivindicación 2 o la composición para uso según la reivindicación 3, en donde el contenido de humedad del polisacárido purificado es menor que 3% en peso.

10. El método según la reivindicación 1, la composición según la reivindicación 2 o la composición para uso según la reivindicación 3, en donde el polisacárido purificado comprende un alginato, un carragenano, una celulosa, una quitina, un quitosano, un carboximetil-quitosano, una quitosano succinamida, un sulfato de condroitína, un dextrano, un galactomanano, un glicógeno, un ácido hialurónico, un almidón, una heparina, un derivado de polisacárido, o mezclas de los mismos.

11. El método según la reivindicación 1, la composición según la reivindicación 2 o la composición para uso según la reivindicación 3, en donde el polisacárido purificado se tritura antes de envasar el polisacárido.

12. El método según la reivindicación 1, la composición según la reivindicación 2 o la composición para uso según la reivindicación 3, en donde el polisacárido purificado es un polvo.

13. El método según la reivindicación 1, la composición según la reivindicación 2 o la composición para uso según la reivindicación 3, en donde el polisacárido esterilizado comprende carboximetil quitosano y el carboximetil quitosano se envasa con un agente esterilizado que comprende un almidón oxidado.

14. La composición para uso según acuerdo con la reivindicación 3, en donde la hidratación comprende formar dos fluidos pulverizables, que se pueden suministrar a través de un aplicador de pulverización.

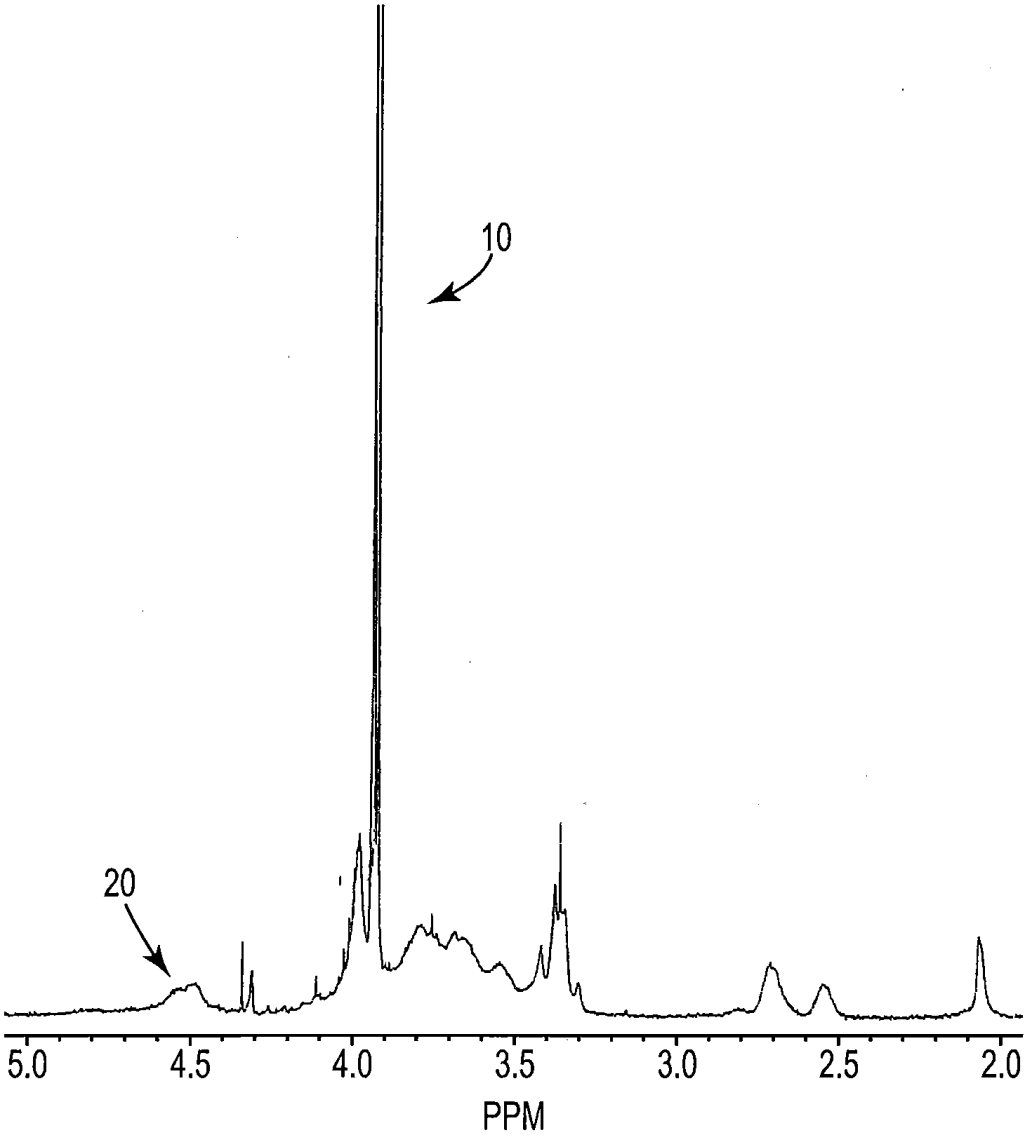


Fig. 1

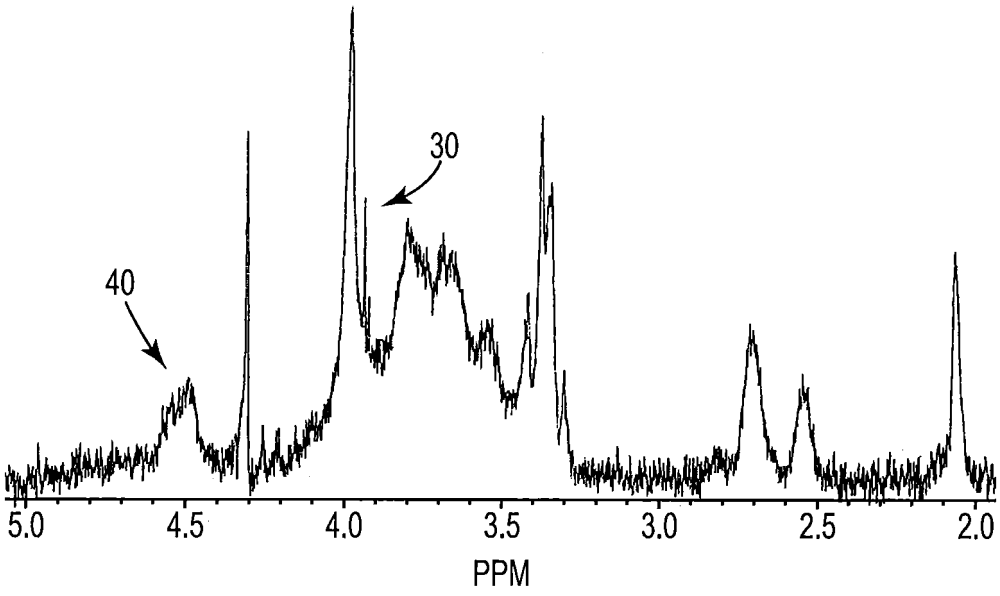


Fig. 2