



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0817567-5 B1

(22) Data do Depósito: 26/09/2008

(45) Data de Concessão: 24/07/2018



(54) Título: FILAMENTO À BASE DE ÁCIDO HIALURÔNICO SOB FORMA ÁCIDA LIVRE, SEU PROCESSO DE PREPARAÇÃO POR FIAÇÃO VIA ÚMIDA E UTILIZAÇÃO DO MESMO

(51) Int.Cl.: D01D 5/06; D01F 9/00; D01F 11/00; A61L 15/28; D01F 2/00; D01F 11/02; D01D 5/00; C08B 37/08; A61L 15/00

(30) Prioridade Unionista: 28/09/2007 FR 0757957

(73) Titular(es): UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I. CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS)

(72) Inventor(es): ALAIN DOMARD; LAURENT DAVID; FLORENCE DUPASQUIER

(85) Data do Início da Fase Nacional: 26/03/2010

"FILAMENTO À BASE DE ÁCIDO HIALURÔNICO SOB FORMA ÁCIDA LIVRE, SEU PROCESSO DE PREPARAÇÃO POR FIAÇÃO VIA ÚMIDA E UTILIZAÇÃO DO MESMO"

A presente invenção refere-se ao domínio dos biomateriais e tem por objeto um processo de preparação por fiação por via úmida de um filamento à base de ácido hialurônico, especificamente solúvel em água. A invenção refere-se também a um filamento à base de ácido hialurônico, o referido filamento apresentando propriedades de inchamento em água e líquidos fisiológicos e além disso estando apto à se solubilizar em água em determinadas condições. A invenção tratou igualmente da utilização do filamento à base de ácido hialurônico assim obtido para a elaboração de diversos biomateriais.

O ácido hialurônico é um constituinte principal dos tecidos conjuntivos. Foi descoberto no humor vítreo bovino em 1934 por Karl Meyer [2], mas sua estrutura química somente pôde ser determinada nos anos 1950 [3, 4] (as referências numéricas entre parênteses quadrados referem-se às referências bibliográficas que figuram no final da descrição).

Descobriu-se principalmente na epiderme (2-4 mg/ml), na derme (~0,5 mg/ml), no cordão umbilical (~4 mg/ml), no humor vítreo e no líquido sinovial.

O ácido hialurônico é um polieletrólito, isto é, um polímero comportando os grupos ionizáveis suscetíveis de se dissociar em solventes polares, para formar uma cadeia polimérica carregada cercada de contraíons mais ou menos móveis. A presença de cargas confere às soluções polieletrólíticas propriedades físico-químicas notáveis

correspondendo às numerosas aplicações.

Os polieletrólitos são utilizados pelas suas propriedades reológicas tanto quanto agentes espessantes ou gelificantes, em cosméticos especificamente [1]. São
5 utilizados igualmente pelas suas propriedades de adsorção às interfaces.

Quanto mais estão largamente presentes nos meios biológicos, o que recomenda sua utilização no âmbito de dispositivos biomédicos.

10 Devido suas propriedades viscoelásticas que lhe conferem um grande poder lubrificante, o ácido hialurônico é utilizado para a viscosuplementação [5], a injeção de ácido hialurônico na articulação tendo por objetivo restaurar a homeostase do líquido sinovial melhorando suas
15 propriedades reológicas e favorecendo uma produção endógena de ácido hialurônico.

As propriedades do ácido hialurônico foram igualmente colocadas em benefício da oftalmologia [6]. É utilizado sob a forma de gel, tal como agente protetor das células
20 oculares durante contato com os instrumentos cirúrgicos e implantes, durante as intervenções de microcirurgia do olho. As principais formulações de HA comercializadas para este tipo de aplicação são Healon® (Advanced Medical Optics, Estados Unidos), Opegan® e OpeganHi® (Santen
25 Pharmaceuticals, Japon).

Graças a seu grande poder de retenção da água, o ácido hialurônico desempenha um papel primordial na hidratação da pele. Interage com o colagénio para conferir às células determinada rigidez contribuindo para a flexibilidade da
30 pele e, se associando com os proteoglicanos da pele, o

ácido hialurônico forma uma rede capaz de impedir a passagem de macromoléculas (frequentemente tóxicas) e facilitar os pequenos eletrólitos e a água.

Para todas as razões, o ácido hialurônico é utilizado
5 no domínio cosmético para a formulação de cremes ou géis.

Um processo de fiação a úmido do ácido hialurônico foi desenvolvido nos anos 60-70 para permitir a preparação de filmes de ácido hialurônico tendo uma estrutura orientada [7,8,9]. O processo é a adaptação de um protocolo e um
10 dispositivo desenvolvido para a preparação de amostras de DNA. No processo de fiação por via úmida descrito no documento 9, uma solução de hialuronato de potássio (2,5 a 3 mg/ml em uma solução de KCl 0,1M) é extrudada continuamente através de uma fieira comportando 720 canais
15 cilíndricos cada um tendo um diâmetro de 70 µm e um comprimento de 1,5 mm. A solução de hialuronato de potássio é extrudada num banho contendo o álcool etílico a 75 a 80% em KCl 0,1 M. As fibras de hialuronato de potássio precipitam e são em seguida agrupadas em um feixe e
20 enroladas sobre um cilindro giratório. As referidas fibras são em seguida secas o que conduz à formação de um filme por coalescência.

As fibras curtas (nanofibras) de ácido hialurônico, agrupadas em membranas, foram igualmente obtidas pela
25 técnica de "electro-spinning" e "blowing-assisted electro-spinning" [10,11].

Os processos citados não permitem obter os filamentos de ácido hialurônico, mas apenas as membranas compostas de redes de nanofibras, isto é, de fibras de pouco comprimento.

30 Além disso, os materiais à base de fibras de ácido

hialurônico podem ser obtidos por reticulação do ácido hialurônico na presença de agentes reticulantes do tipo carbodiimida ou epóxido (agentes reticulantes cujo uma lista não exaustiva, por exemplo é citada no documento US 5 2007066816). Estes materiais apresentam, contudo a desvantagem não negligenciável de serem tóxicos ao homem, o que limita severamente seu interesse em todas utilizações *in vivo*. Além disso, estes materiais são insolúveis em água.

10 A presente invenção propõe remediar os inconvenientes supracitados apresentados pelos materiais conhecidos à base de ácido hialurônico.

Tem por primeiro objetivo fornecer um novo processo de fabricação de um material à base de ácido hialurônico apresentando-se sob forma de um filamento contínuo que é 15 isento de agente químico reticulante.

O termo "filamento" é definido no sentido da invenção como uma fibra unitária contínua de grande comprimento, não sendo normalmente interrompida durante seu processo de fabricação, o comprimento do referido filamento medindo-se 20 em metros ou pelo menos dezenas de centímetros.

De acordo com um primeiro aspecto, a invenção refere-se a um processo de preparação por fiação via úmida de um filamento à base de ácido hialurônico sob forma ácida livre (ou protonada), o referido processo sendo caracterizado 25 pelo fato que compreende as etapas seguintes:

a) preparação de uma solução aquosa fiável de ácido hialurônico ou de um sal de ácido hialurônico, preferivelmente uma solução de hialuronato de sódio;

b) extrusão da referida solução através de uma fieira 30 de extrusão;

c) formação do filamento por passagem da solução extrudada em um banho de ácido acético concentrado, cuja concentração é suficientemente elevada para obter coagulação da solução extrudada sob forma de um filamento coagulado, estiramento e secagem.

Pela expressão "solução fiável", compreende-se uma solução cujas características, especificamente reológicas, a tornam apta a ser extrudada de maneira contínua.

A formação do filamento se faz por coagulação. A solução de ácido hialurônico ou do sal de ácido hialurônico, que é extrudada através da fieira, é progressivamente tomada em massa durante sua passagem no banho de coagulação no qual o agente coagulante é a solução concentrada de ácido acético. Por exemplo, o ácido acético é concentrado mais de 80%, preferivelmente mais de 90%. Nesta concentração, o ácido hialurônico não é mais solúvel. Assim a difusão da solução de ácido acético na solução extrudada permite passar o ácido hialurônico do estado líquido a um estado de hidrogel físico, sob forma de um complexo ácido hialurônico/ácido acético, até obter um filamento contínuo cuja secção é completamente coagulada, o estiramento e a secagem conferem ao mencionado filamento suas características mecânicas que o tornam facilmente manipulável. No caso onde a solução extrudada é uma solução de um sal de ácido hialurônico, o ácido acético provoca sua hidrólise de um lado ácido hialurônico e de outra lado um acetato que é solúvel na solução de ácido acético concentrado; portanto obtém-se da mesma maneira, do que partindo-se de uma solução de ácido hialurônico ou de um sal de ácido hialurônico, um hidrogel físico sob forma de

um complexo ácido hialurônico sob forma de ácido livre/ácido acético.

Preferivelmente a solução fiável está a uma concentração de pelo menos 0,8% em peso de ácido hialurônico ou o equivalente em peso do sal de ácido hialurônico. Abaixo desta concentração, a viscosidade da solução é insuficiente para permitir uma extrusão contínua. Vantajosamente está a uma concentração da ordem de 1 a 2% em peso de ácido hialurônico. Certamente a concentração
5
10 pode variar em função do diâmetro da fieira utilizada.

Preferivelmente, a preparação da solução fiável consiste em dissolver em água uma quantidade determinada de hialuronato de sódio para obter a concentração desejada, em seguida realizar uma desgaseificação da solução obtida,
15 isto a fim de eliminar os gases dissolvidos que podem gerar as bolhas durante a formação do filamento.

A taxa de estiramento pode ser baixa, por exemplo de 1,05 a 1,10, sendo neste caso realizada sobre o filamento coagulado, durante secagem, a fim de exercer uma tensão
20 suficiente do referido filamento para manter sua geometria e evitar qualquer deformação durante o percursos até seu enrolamento.

No entanto, é preferível exercer um estiramento a uma taxa maior, por exemplo de 2 ou mesmo mais, em condições
25 permitindo que este estiramento se produza principalmente sobre a solução fiável extrudada entre a saída da fieira e o banho de coagulação. Este estiramento é possível devido às excelentes propriedades viscoelásticas das soluções, especificamente de hialuronato de sódio, que permite
30 regular o diâmetro do filamento e suas propriedades

mecânicas.

A secagem é geralmente total, a fim de obter um filamento que é exclusivamente formado de ácido hialurônico sob forma ácida livre e uma baixa proporção de água, da ordem de 8 a 12% em peso quando é condicionado em uma atmosfera normal. Uma secagem mais intensiva destruiria o complexo ácido hialurônico/ácido acético/água por eliminação de ácido acético e água. No entanto secagem pode eventualmente ser parcial, seja para obter um filamento isento de ácido acético, mas tendo uma proporção de água maior, seja para obter um filamento conservando uma determinada proporção de ácido acético no âmbito de aplicações nas quais a presença deste componente não é impeditiva.

É necessário notar que o teor de água de 8 a 12% é o teor de água habitual de um polissacarídeo, tal como ácido hialurônico ao estado seco quando este está sob forma não ionizada, e no caso presente sob forma ácida livre. Ao inverso, todo polissacarídeo sob forma ionizada, especificamente sob forma salina, contém nas mesmas condições de 16 a 18% de água. O baixo teor de água do filamento de ácido hialurônico sob forma ácida livre tem consequências importantes para suas propriedades, especificamente mecânicas.

O filamento obtido diretamente pelo processo supracitado pode se hidratar e, portanto inflar ao contato da água ou meios fisiológicos; permanece solúvel em água, nestas condições que são especificamente função de sua cristalinidade e, portanto da taxa de estiramento a qual é submetido.

Pode, entretanto ser desejável diminuir sua reatividade em água. Para isso, de acordo com uma variante de realização, a etapa de formação do filamento de ácido hialurônico sob forma de ácido livre é seguida de uma etapa
5 de revestimento do referido filamento com um composto apto a retardar sua hidratação, e portanto o inchamento e a solubilização do filamento, em água ou em um meio fisiológico. O composto do revestimento permanece em superfície e não difunde em profundidade no filamento. O
10 revestimento é realizado pela passagem do filamento em um banho de revestimento, por exemplo, contendo de 0,10 a 10% em peso do composto de revestimento.

O referido composto de revestimento é, em um modo de realização, uma macromolécula natural, tal como quitosana
15 ou colágeno. Estes polímeros naturais carregando sítios iônicos produzem uma interação eletrostática com o ácido hialurônico, do tipo poliânion/polication, o que aumenta a interação entre o composto de revestimento e o filamento. Além disso, neste caso como em outros um revestimento à
20 base de polímero não tendo cargas iônicas se desenvolve das ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas.

Em outro modo de realização, o composto de revestimento do filamento é um composto graxo de origem vegetal ou animal, por exemplo, uma cera vegetal depositada
25 ao estado fundido.

Pode também ser interessante incluir nos espaços interfibrilares do filamento princípios ativos, que são suscetíveis de serem em seguida dispersos quando o filamento está em contato com um meio líquido,
30 especificamente um meio fisiológico. Esta inclusão é obtida

mergulhando o filamento em um banho de impregnação contendo os referidos princípios ativos, a porosidade do filamento permitindo que estes difundam para o interior do filamento nos espaços interfibrilares, em seguida secando o filamento assim impregnado. Sob a expressão "princípios ativos", designa-se todas as moléculas de interesse biológico no domínio das biotecnologias, entre as quais os hormônios, os fatores de crescimento, as interleucinas, interferons, os antibióticos, os antifúngicos e os bioestimulantes. A velocidade de dispersão do princípio ativo é função das interações entre o referido princípio e o filamento. A dispersão é relativamente rápida se não há nenhuma interação. Em contrapartida se há interações, a dispersão pode ser controlada seja por via físico-química, seja por biodegradação progressiva do filamento, em especial neste último caso se as interações são muito fortes.

A invenção tem igualmente por objeto um filamento à base de ácido hialurônico sob forma de ácido livre suscetível de ser obtido pelo processo supracitado. De maneira característica, o filamento de base, que é isento de agentes químicos reticulantes, contém apenas o ácido hialurônico sob forma de ácido livre e água. É necessário notar que o sal residual, especificamente o acetato de sódio formado durante o processo supracitado, é solubilizado na solução de ácido acético concentrado e não está portanto no filamento. A ausência de agentes reticulantes garante uma melhor biocompatibilidade dado que os referidos agentes apresentam uma determinada toxicidade e portanto, induzem reações inflamatórias *in vivo*.

Os filamentos da invenção tem, ao estado seco, um teor

de água de 8 a 12%. Apresentam as propriedades de inchamento interessantes nas condições fisiológicas. Isto os torna muito bons candidatos para o preenchimento das rugas.

5 A invenção tem igualmente por objeto um filamento revestido à base de ácido hialurônico que comporta superficialmente uma revestimento de um composto apto a reduzir sua hidratação, por exemplo da quitosana ou do colágeno ou um corpo graxo de origem animal ou vegetal,
10 especificamente uma cera de origem vegetal.

A invenção tem igualmente por objeto um filamento à base de ácido hialurônico sob forma ácida livre que comporta princípios ativos incluídos nos seus espaços interfibrilares.

15 A invenção refere-se também à utilização do filamento à base de ácido hialurônico sob forma ácida livre em cosmético especificamente para preenchimento das rugas.

Outro aspecto refere-se à utilização do filamento à base de ácido hialurônico sob forma ácida livre da invenção
20 para elaborar os materiais têxteis, por exemplo, dos não tecidos, para a confecção de bandagens cicatrizantes.

Outras características e vantagens da invenção aparecerão à leitura da descrição detalhada e os exemplos de realização vão seguir, bem como das figuras anexadas nas
25 quais:

- a figura 1 representa o filamento de ácido hialurônico sob forma ácida livre de acordo com a invenção vista com a ajuda de um microscópio ótico;

- a figura 2 mostra a estrutura do filamento de acordo
30 com a invenção, tal como observado com a ajuda de um

microscópio eletrônico com varredura;

- a figura 3 representa a curva de deformação/contração obtida após um ensaio de tração com 2 mm/min sobre um filamento de acordo com a invenção, pouco
5 estirado;

- a figura 4 representa as imagens obtidas por difração dos raios X para um macrofilamento: não estirado (fig. 4a), estirado (fig. 4b) e muito estirado (fig. 4c).

A presente invenção refere-se a um processo de
10 preparação por fiação via úmida de um filamento contínuo à base de ácido hialurônico sob forma ácida livre ou protonada, a partir de uma solução aquosa fiável de ácido hialurônico ou de um sal de ácido hialurônico, preferivelmente de hialuronato de sódio.

15 Na presente descrição, a expressão "ácido hialurônico" deve ser compreendida como sendo o ácido hialurônico sob forma ácida livre ou protonada.

Para preparar a solução fiável, dissolve-se em água uma quantidade de hialuronato de sódio suficiente para
20 obter uma solução viscosa apta a fiar, sem gotejar. Observa-se que abaixo de 0,8% em peso, as soluções não são suficientemente viscosas. Para concentrações da ordem de 1 a 2%, as soluções apresentam viscoelasticidade tal que fiam-se com a espátula. Certamente, a concentração em
25 hialuronato de sódio é escolhida em função do diâmetro da fieira de extrusão. Em um quadro experimental, quando a fieira de extrusão é uma agulha fina cujo diâmetro é da ordem de 0,8 mm, as viscosidades muito grandes impedem a passagem da solução através da fieira, neste caso nos
30 exemplos abaixo foram preferidas as soluções a 1% em peso

de hialuronato de sódio.

Para evitar os problemas de ruptura e que seja fiável em boas condições, a solução utilizada é submetida a uma etapa de desgaseificação; de fato, os gases dissolvidos nas
5 soluções formam pequenas bolhas que podem ser a origem de uma fragilização do filamento. A desgaseificação é muito importante e difícil que as soluções são viscosas.

A solução fiável assim preparada é extrudada através de uma fieira de extrusão, imersa em um banho de coagulação
10 contendo um agente coagulante, estirado e seco e o filamento obtido é recebido. As condições de extrusão, especificamente a velocidade de extrusão, deve permitir a formação de um filamento coagulado de diâmetro constante. O banho de coagulação é uma solução concentrada de ácido
15 acético. A concentração deste ácido acético é suficientemente elevada para obter sua difusão progressiva na solução extrudada de ácido hialurônico permite passar o ácido hialurônico do estado líquido ao estado de hidrogel físico, sem dúvida sob forma de complexo ácido
20 hialurônico/ácido acético/água, até obter um filamento cuja seção transversal é completamente coagulado. Trata-se de ácido acético concentrado a mais de 80%, preferivelmente mais de 90%.

Em um quadro experimental, a extrusão foi realizada
25 utilizando uma seringa equipada de um êmbolo de seringa RAZEL R-99E e uma agulha servindo de fieira de extrusão, tendo um diâmetro da ordem de 0,8 mm. A velocidade de extrusão foi compreendida entre 1,2 e 15 cm/mn.

A duração da coagulação é controlada de três maneiras:
30 pela velocidade de degradação do filamento no banho, pelo

volume de solução contido no reator contendo o banho de coagulação e por último pelo trajeto realizado pelo filamento ao interior deste reator. O tempo de permanência deve ser suficiente de modo que o filamento seja
5 completamente coagulado.

O estiramento é realizado com a ajuda de um sistema motorizado giratório, que trata o filamento com uma velocidade superior à velocidade de extrusão e que eventualmente a recebe. A taxa de estiramento é a razão
10 entre a velocidade em metro linear do referido sistema giratório e a velocidade de extrusão em metro linear. O estiramento pode intervir sobre o filamento coagulado; neste caso, a taxa de estiramento é pouco importante, da ordem de alguns porcentos, tendo principalmente por
15 objetivo manter a geometria do fio durante de seu deslocamento até sua recepção. O estiramento pode intervir imediatamente na saída da fieira sobre a solução extrudada ainda não coagulada e eventualmente em parte sobre a solução extrudada durante a coagulação; neste caso, a taxa
20 de estiramento é muito maior, podendo ser da ordem ou mesmo superior à 2, este estiramento tendo principalmente por objetivo regular o diâmetro do filamento e suas propriedades mecânicas.

A secagem, por qualquer meio adequado, tem por
25 objetivo eliminar o excesso de banho de coagulação e reduzir a proporção de ácido acético e de água no filamento. Durante a secagem total, o ácido acético é totalmente eliminado e o filamento obtido contém unicamente o ácido hialurônico e a água, com um teor de água de 8 a 12%.

30 As características mecânicas do filamento obtido são

funções das condições secagem e da taxa de estiramento. Em particular a taxa de cristalinidade do filamento evolui como a taxa de estiramento.

O filamento, contendo unicamente o ácido hialurônico e a água, pode se hidratar ao contato da água ou soluções fisiológicas, com um inchamento subsequente. Permanece solúvel em água, em condições variáveis de acordo com seus parâmetros de fabricação.

De acordo com uma alternativa de realização, a fim de torná-lo menos sensível à hidratação, o filamento de ácido hialurônico sofre uma etapa complementar de revestimento com um composto apto a retardar a hidratação, e portanto o inchamento e solubilização do filamento, na água ou em um meio fisiológico tal como: o sangue, o líquido linfático ou lacrimal, etc. O referido composto de revestimento é, em um modo de realização, uma macromolécula natural tal como quitosana ou colágeno. Em outro modo de realização, o composto de revestimento do filamento de ácido hialurônico é um composto graxo de origem vegetal ou animal.

De acordo com um segundo aspecto, a invenção refere-se a um filamento contínuo à base de ácido hialurônico suscetível de ser obtido pelo processo supracitado. As fibras conhecidas de ácido hialurônico obtidas por eletrospinning têm, após observações WEB, os diâmetros inferiores à 50 nm. O filamento de acordo com a presente invenção, obtido pelo processo supracitado, tem um diâmetro que vai geralmente de cem a várias centenas de micrômetros. Além disso, tem um comprimento que não é limitado, podendo ser de vários metros ou pelo menos de várias dezenas de centímetros.

De maneira característica, o filamento à base de ácido hialurônico da invenção está isento de qualquer agente químico de reticulação, o que o torna particularmente apto às utilizações in vivo no homem. Contem o ácido hialurônico, a água e eventualmente o ácido acético. Preferivelmente contém exclusivamente o ácido hialurônico e a água, especificamente ao estado seco com um teor de água de 8 a 12%.

Ele infla em água e em um meio fisiológico dado. É mais apto a se dissolver em água. Esta dissolução em água do filamento de ácido hialurônico não é imediata; é obtida aumentando o pH. De fato, o ácido hialurônico sob sua forma ácida livre ou protonada, isto é, não ionizada não é diretamente solúvel em água. É necessário assim ionizar suficientemente os sítios carboxílicos para obter uma perfeita solubilização.

O filamento de ácido hialurônico foi caracterizado por observação ao microscópio ótico e ao microscópio eletrônico com varredura, por ensaios de tração bem como por difração de raios X, como apresentado a seguir.

1. Determinação do Diâmetro dos Filamentos

O diâmetro médio dos filamentos foi determinado para cada velocidade de fiação com a ajuda de um microscópio ótico a partir de quatro medidas efetuadas com diferentes lugares sobre o comprimento do mesmo filamento. Ele prova que a velocidade de fiação não tem influência sobre o diâmetro dos filamentos.

Os diâmetros medidos são compreendidos entre 120 e 170 μm . Contudo, o diâmetro dos fios pode variar por modificação da taxa de estiramento e do diâmetro da fieira.

A imagem de um filamento de acordo com a invenção tal como foi visualizada com a ajuda de um microscópio ótico é representada na figura 1. Trata-se de um filamento de ácido hialurônico obtido a partir de uma solução à 1% em peso de hialuronato de sódio para uma velocidade de fiação de 5,9 cm/min.

2. Microscopia Eletrônica com Varredura

O estado de superfície e o perfil de ruptura dos filamentos de ácido hialurônico foram observados com a ajuda de um microscópio eletrônico com varredura Hitachi S800 a 15 kV após metalização com ouro-paládio. A ruptura dos filamentos foi realizada em imersão no nitrogênio líquido a partir de um filamento cercado ao redor de uma agulha. As imagens obtidas a partir de um filamento pouco estirado de ácido hialurônico, obtido a partir de uma solução a 1% em peso de hialuronato de sódio, é representado na figura 2.

O filamento parece inicialmente constituído de várias fibras montadas (figura 2a), mas a superfície de ruptura (figura 2b) mostra claramente que o relevo de superfície é devido aos recessos. Estes recessos ou vilosidades aparecem muito certamente durante a etapa de secagem. Sobre a figura 2b, observa-se igualmente nestes vilosidades menores objetos como fibrilas que parecem se alinhar de acordo com o eixo do filamento. Tais "nanofibrilas" já foram observadas para as fibras de quitosana [12].

3. Propriedades Mecânicas

Os ensaios de tração foram realizados com a ajuda de uma máquina de tração Adamel-Lhomargy DY22 equipada de um sensor 10N e um sistema específico para os fios. As

amostras foram preparadas a partir de uma solução a 1% em peso de hialuronato de sódio coagulado no ácido acético concentrado a 99%. Estes filamentos foram ligeiramente estirados.

5 Estes filamentos foram em seguida submetidos a um contração em tração à uma velocidade de 2 mm/min, o comprimento inicialmente submetido à carga fixada à 30 mm. Para cada tipo de amostra foi realizada quatro ensaios.

O módulo de Young, a resistência à ruptura e o
10 alongamento à ruptura foram então determinados para cada amostra, isto é para cada velocidade de fiação.

Um exemplo de curva de tração é dado na figura 3. Corresponde à curva de deformação/contração obtida após um ensaio de tração à 2 mm/min sobre um fio pouco estirado, a
15 velocidade de fiação de 4,7 cm/min. Observa-se que após um domínio de deformação elástica linear, o filamento conhece um início de deformação plástica.

4. Cristalinidade: Difração de Raios X (WAXS)

As imagens obtidas por difração de raios X são dadas
20 na figura 4 para um filamento de ácido hialurônico: não estirado (figura 4a), estirado (figura 4b) e muito estirado (figura 4c). Estes resultados demonstram o desenvolvimento da cristalinidade das amostras estudadas.

O perfil de intensidade foi estudado em função do
25 ângulo azimutal o que permitiu o cálculo da função de orientação de Hermans:

$f = -0,02$ para a amostra não estirada (figura 4a)

e $f = -0,113$ para a amostra muito estirada (figura 4c)

Sabendo que:

30 - $f = -0,5$ para planos perfeitamente alinhados com o

eixo de uma fibra,

-f= 1 para planos perpendiculares com o eixo da fibra,

e

-f= 0 para planos orientados de maneira isótropa,

5 os valores obtidos mostram que as partes cristalinas do filamento não estirado são pouco orientadas em uma direção privilegiada para a amostra muito estirada, as partes cristalinas são orientadas de preferência de acordo com o eixo do filamento.

10 A cristalinidade induz no filamento de ácido hialurônico um arranjo paralelo de nano fibrilas, com formação de espaços interfibrilares.

Aplicações visadas:

Estes filamentos têm propriedades particularmente
15 interessantes para os domínios biomédicos e cirúrgicos. Uma primeira aplicação visada é o preenchimento das rugas, devido sua capacidade de inchamento e seu caráter cristalino. Quanto mais a amostra é cristalina e mais a sua resolubilização, especificamente no pH dos meios biológicos,
20 tal como sangue (pH de 7,2 a 7,4) ou lágrimas (pH de 8) será retardada.

Outra aplicação visa a utilização dos filamentos à base de ácido hialurônico para fazer têxteis, sob forma de não tecidos, de tecidos ou tricôs, especificamente para
25 constituir bandagens cicatrizantes.

É igualmente previsto inserir princípios ativos nos espaços interfibrilares, transformando então os filamentos em sistemas adaptados a dispersão controlada de princípios ativos.

30 **Bibliografia:**

[1] Dautzenberg H., Jeager W., Philipp B., Seidel C. and Stscherbina D. - **Polieleetrolyte: formation, characterisation and application.** Hanser Ed. (1994).

[2] Meyer, K.; Palmer, J.W. - **The polisaccharide of the vitreous humor.** J. Biol. Chem. (1934), 107, 629.

[3] Weissmann, B.; Meyer, K. - **Structure of hyaluronic acid. The glucuronidic linkage.** J. Am. Chem. Soc. (1952), 74, 4729.

[4] Jeanloz, R.; Flowers, H. - **The isolation and synthesis of the methyl estermethyl α -glycoside of 3-O- β -D-glucuronosyl-N-acetyl-D-glucosamine (hyalobiuronic acid).** J. Am. Chem. Soc. (1962), 84, 3030.

[5] Balazs, E.A.; Denlinger, J. L. - **Viscosupplementation: a new concept in the treatment of astеоarthritis.** J. Rheumatology (1993), 39, 3-9.

[6] Goa, K.; Benfield, P. - **Hyaluronic acid. A review of its pharmacology and use as a surgical id in ophtalmology, and its therapeutic potential in joint disease and wound healing.** Drugs (1994), 47, 536-566.

[7] Rupprecht, A. - **Preparation of oriented DNA by Wet Spinning.** Acta Chemica Scandinavica (1966), 20, 494-504.

[8] Rupprecht, A. - **A wet spinning apparatus and auxiliary equipment suitable for preparing samples of oriented DNA.** Biotechnology and engineering (1970), 12, 93-121.

[9] Rupprecht, A. - **Wet spinning of hyaluronic acid. Preparation of oriented samples.** Acta Chemica Scandinavica (1979), 33, 779-780.

[10] Um, I.C; Fang, D.F.; Hsiao, B.S.; e col. - **Eletro-spinning and eletro-blowing of hyaluronic acid.**

Biomacromolecules (2004), 4, 1428-1436.

[11] Wang, X.F.; Um, I.C.; Fang, D. F.; e col. -
Formation of water-resistant hyaluronic acid nanofibers by
blowing-assisted eletro-spinning and non-toxic post
5 **treatments.** Polymer (2005), 46 (13), 4853-4867

[12] Notin L., Viton C., Laurent D., Alcouffe P.,
Rochas C, Domard A. - **Morphology and mechanical properties**
of chitosan fibers obtained by gel- spinning : Influence of
the dry-jet-stretching step and ageing - Actabiomaterialia
10 (2006), 387-402

REIVINDICAÇÕES

1. Processo de preparação por fiação via úmida de um filamento à base de ácido hialurônico sob forma ácida livre, **caracterizado** pelo fato que compreende as etapas seguintes:

5 a) preparação de uma solução aquosa fiável de ácido hialurônico ou de um sal de ácido hialurônico;

b) extrusão da referida solução através de uma fiação de extrusão; e

10 c) passagem da solução extrudada em uma solução de ácido acético cuja concentração é maior que 80% para obter a coagulação da solução extrudada sob forma de um filamento coagulado, estiramento e secagem.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a solução de ácido acético é 15 concentrada à mais de 90%, especificamente à 99%.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pelo fato de que a preparação da solução fiável consiste em dissolver em água uma quantidade determinada de hialuronato de sódio e em seguida realizar 20 uma desgaseificação antes da extrusão.

4. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que a solução fiável tem uma concentração em peso de ácido hialurônico ou do sal de ácido hialurônico superior à 0,8%, 25 preferivelmente da ordem de 1 a 2%.

5. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizado** pelo fato de que o estiramento intervém sobre o filamento coagulado com uma taxa de estiramento baixa da ordem de 1,05 a 1,10.

30 6. Processo, de acordo com qualquer uma das

reivindicações 1 a 4, **caracterizado** pelo fato de que o estiramento intervém sobre a solução extrudada antes e eventualmente durante a coagulação com uma taxa de estiramento grande, especificamente da ordem ou superior à 2.

7. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, **caracterizado** pelo fato de que as condições de secagem são reguladas de modo a eliminar totalmente o ácido acético contido no filamento coagulado.

8. Processo, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** pelo fato de que as condições de secagem são reguladas de modo a eliminar a maior parte da água contida no filamento coagulado.

9. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizado** pelo fato de que comporta uma etapa complementar de revestimento do filamento por um composto apto a retardar a hidratação do referido filamento, especificamente quitosana ou colágeno ou um composto graxo de origem vegetal ou animal.

10. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizado** pelo fato de que comporta uma etapa complementar de inclusão de princípios ativos nos espaços interfibrilares do filamento.

11. Filamento à base de ácido hialurônico sob forma ácida livre, especificamente obtido pelo processo como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, **caracterizado** pelo fato de que contém ácido hialurônico, ácido acético e água.

12. Filamento de ácido hialurônico, especificamente obtido pelo processo como definido na reivindicação 7,

caracterizado pelo fato de que contém exclusivamente o ácido hialurônico e a água em baixa proporção, especificamente de 8 a 12% em peso de água.

13. Filamento, de acordo com a reivindicação 11 ou 12,
5 **caracterizado** pelo fato de que tem um diâmetro da ordem ou superior a 100 µm.

14. Filamento, de acordo com qualquer uma das reivindicações 11 a 13, **caracterizado** pelo fato de que comporta um revestimento de um composto apto a retardar sua
10 hidratação, especificamente quitosana ou colágeno ou composto graxo de origem vegetal ou animal, especificamente cera vegetal.

15. Filamento, de acordo com qualquer uma das reivindicações 11 a 13, **caracterizado** pelo fato de que
15 comporta princípios ativos incluídos nos seus espaços interfibrilares.

16. Filamento, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de que os princípios ativos são escolhidos entre os hormônios, os fatores de crescimento,
20 as interleucinas, os interferons, os antibióticos, os antifúngicos e os bioestimulantes.

17. Utilização do filamento como definido em qualquer uma das reivindicações 11 a 16, **caracterizada** pelo fato de que serve para elaborar materiais têxteis, especificamente
25 tecidos não tecidos, tais como bandagens cicatrizantes.

18. Utilização do filamento como definido em qualquer uma das reivindicações 11 a 14, **caracterizada** pelo fato de ser em cosmético para preenchimento das rugas.

19. Utilização do filamento como definido na
30 reivindicação 15 ou 16, **caracterizada** pelo fato de ser para

elaborar sistemas adaptados ao controle de dispersão de princípios ativos.

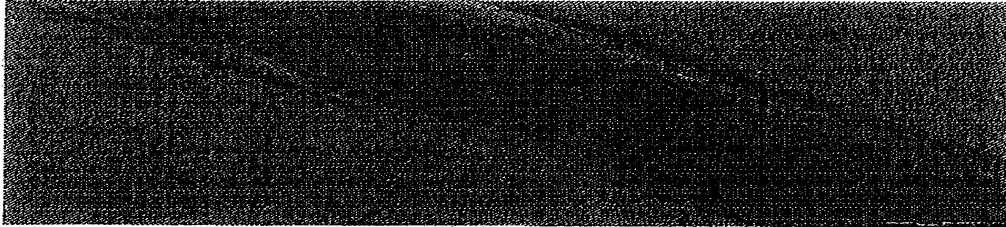


Figura 1



Figura 2a

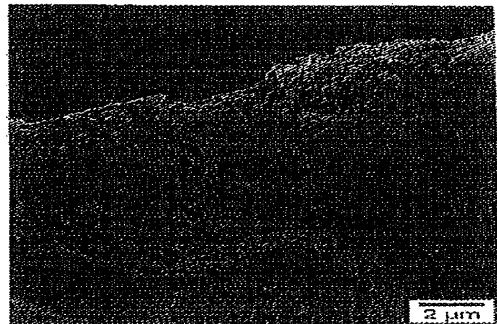


Figura 2b

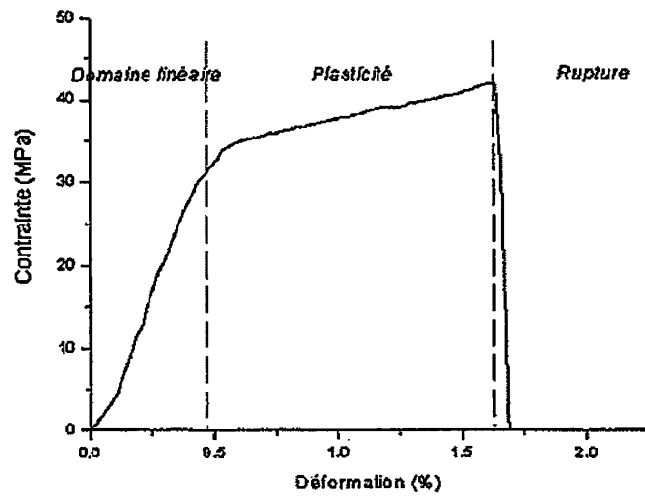


Figura 3

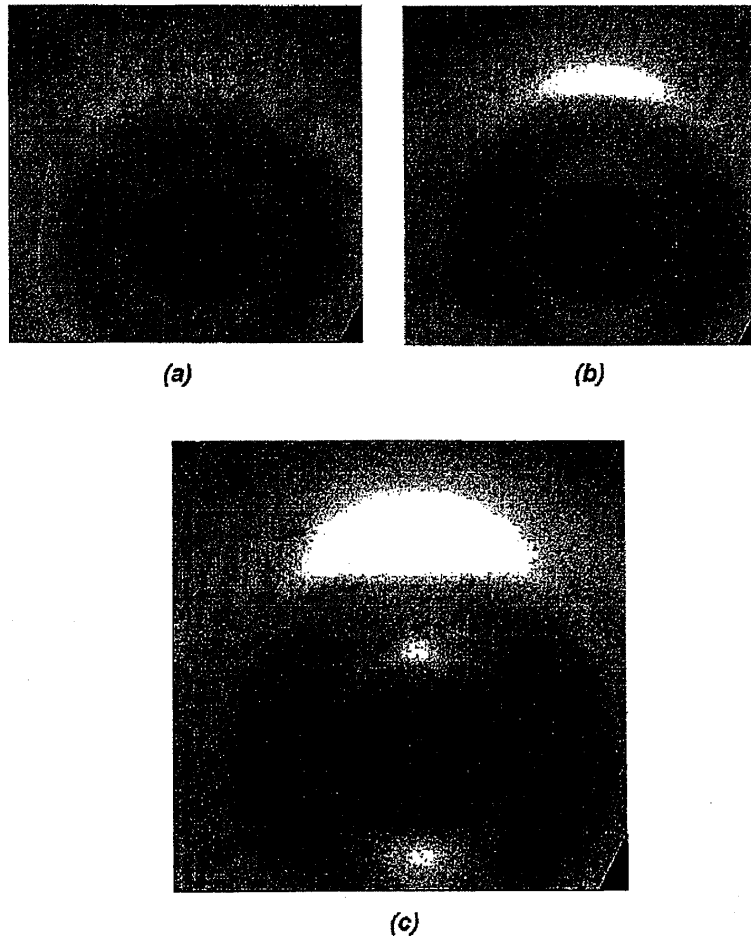


Figura 4