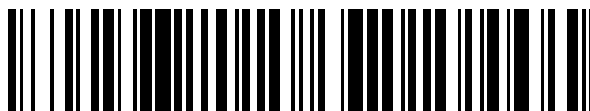


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 552 659**

51 Int. Cl.:

**C08L 5/08** (2006.01)  
**A61K 47/36** (2006.01)  
**A61K 9/10** (2006.01)  
**A61L 27/44** (2006.01)  
**C08J 3/075** (2006.01)  
**A61L 27/20** (2006.01)  
**A61L 27/52** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.08.2011 E 11819239 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.08.2015 EP 2609149**

54 Título: **Composiciones de sales de quitosano/glucosamina termogelificantes, duales y altamente biocompatibles**

30 Prioridad:

**18.02.2011 US 201161444646 P**  
**27.08.2010 US 377592 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**01.12.2015**

73 Titular/es:

**OLIGO MEDIC INC. (100.0%)**  
**2903 rue Fendall**  
**Montréal, Québec H3T 1N2, CA**

72 Inventor/es:

**CHENITE, ABDELLATIF y**  
**SELMANI, AMINE**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 552 659 T3**

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

Composiciones de sales de quitosano/glucosamina termogelificantes, duales y altamente biocompatibles

**Campo técnico**

5 La presente descripción se refiere a una solución de quitosano neutralizada con solución tampón de carbonato de amino-azúcar, solución tampón de fosfato de amino-azúcar o solución tampón de amino-azúcar fosforilado.

**Antecedentes de la técnica**

10 Los hidrogeles están acaparando cada vez mayor atención como biomateriales para aplicaciones biomédicas, tales como ingeniería de tejidos y suministros terapéuticos. Además, se prefieren los hidrogeles que se forman *in situ* o los que presentan la capacidad específica de aumentar su viscosidad con la temperatura, denominados también termosensibles, a los hidrogeles preformados, puesto que las células y compuestos bioactivos, tales como fármacos, pueden mezclarse fácilmente con las soluciones precursoras antes de la gelificación para dar geles cargados homogéneamente. Además, los equipos de gelificación *in situ* facilitan la aplicación y permiten una cirugía mínimamente invasiva y llenar adecuadamente las cavidades de lesiones con formas complejas.

15 El quitosano es un polisacárido aminico obtenido por N-desacetilación alcalina parcial a sustancial de la quitina, también denominada poli(N-acetil-D-glucosamina), que es un biopolímero que existe en la naturaleza en el exoesqueleto de los crustáceos, tales como cáscaras de camarón, cangrejo y langosta. El quitosano contiene grupos amina libres (-NH<sub>2</sub>) y se puede caracterizar por la proporción de unidades de N-acetil-D-glucosamina y unidades de D-glucosamina, que se expresa como el grado de desacetilación (DDA) del polímero quitina completamente acetilado. Las propiedades del quitosano, tales como la solubilidad y viscosidad, están influenciadas por el grado de desacetilación (DDA), que representa el porcentaje de monómeros desacetilados y por el peso molecular (Pm).

20 En varios documentos (Patentes de EE.UU. N° 4.572.906; 4.956.350; 5.894.070; 5.902.798; 6.124.273; y la solicitud de patente WO 98/22114) se ha propuesto el quitosano en diversas formulaciones, solo y con otros componentes, para estimular la reparación de los tejidos dérmicos, corneales y duros. Las propiedades del quitosano que se citan más comúnmente como beneficiosas para el proceso de reparación de heridas son su biodegradabilidad, adhesividad, prevención de la deshidratación y como barrera para la invasión bacteriana. El interesante potencial hemostático del quitosano ha conducido también a su aplicación directa para reducir hemorragias en injertos y heridas (Patente de EE.UU. 4.532.134). Algunos estudios sostienen que la actividad hemostática del quitosano procede únicamente de su capacidad para aglutinar glóbulos rojos, mientras que otros creen que su carácter de amina policatiónica puede activar las plaquetas liberando trombina e iniciar la cascada de coagulación clásica conduciendo así a su uso como hemostático en combinación con fibrinógeno y plaquetas autólogas purificadas (Patente de EE.UU. 5.773.033).

25 Una dificultad técnica que a menudo presenta el quitosano es una baja solubilidad a pH fisiológico y fuerza iónica, lo que limita su uso en estado de solución. Por lo tanto típicamente, la disolución de quitosano se logra por medio de la protonación de los grupos amina en soluciones acuosas ácidas que tengan un pH que varíe desde 3,0 hasta 5,6. Dichas soluciones de quitosano permanecen solubles hasta un pH próximo a 6,2, en el que la neutralización de los grupos amina reduce la repulsión electrostática entre cadenas y permite que fuerzas atrayentes de enlaces de hidrógeno, interacciones hidrófobas y de van der Waals provoquen la precipitación del polímero a un pH próximo a 6,3-6,4. La mezcla de una sal dibásica de poliol-fosfato (es decir, glicerol-fosfato) con una solución acuosa de quitosano puede aumentar el pH de la solución, evitando con ello su precipitación. En presencia de estas sales particulares, las soluciones de quitosano de concentración sustancial (0,5-3%) y alto peso molecular (> varios cientos de kDa) permanecen líquidas, a baja temperatura o a temperatura ambiente, durante un largo período de tiempo con un pH en un región neutra fisiológicamente aceptable entre 6,8 y 7,2. Este aspecto facilita la mezcla de quitosano con células de manera que mantiene su viabilidad. Una propiedad importante adicional es que dichas soluciones acuosas de quitosano/poliol-fosfato (C/PP) solidifican o gelifican cuando se calientan hasta una temperatura apropiada que permita que las soluciones mixtas de quitosano/células sean inyectadas en los sitios del cuerpo en donde, por ejemplo 45 nódulos de cartílagos, se puedan formar en espacios subcutáneos.

50 El quitosano es por tanto reconocido como un biopolímero biodegradable, biocompatible, antibacteriano y hemostático que es capaz de promover la curación de heridas, la absorción de fármacos y la reconstrucción de tejidos. Debido a las propiedades intrínsecas antes mencionadas, el quitosano también ha sido estudiado ampliamente en numerosas aplicaciones cosméticas y farmacéuticas. Por consiguiente, considerando el gran potencial del quitosano, existe la necesidad continua de mejorar las propiedades de los hidrogeles de quitosano termosensibles conocidos que se consideran todavía muy prometedores para una gama más amplia de aplicaciones biomédicas.

55 La patente de EE.UU. N° 6.344.488 describe una composición de quitosano a temperatura controlada dependiente del pH preparada neutralizando un quitosano comercial que tiene un grado de desacetilación que varía desde 70 hasta 95% con sales dibásicas de mono-fosfato de polioles o azúcares, polioles fosforilados o azúcares fosforilados, ilustrados en particular por β-glicerofosfato (β-GP). Debido a sus propiedades únicas, el sistema quitosano-GP termogelificante ha alcanzado un interés biomédico significativo. Sin embargo, se requería una alta concentración de β-GP, particularmente para el quitosano que tiene un DDA entre 70 y 85%, para lograr la gelificación rápida a la tem-

peratura corporal y evitar la rápida eliminación del hidrogel después de su administración (Chenite et al., 2000, *Biomaterials*, 21: 2155-2161; y Chenite et al., 2001, *Carbohydrate Polymers*, 46: 39-47). Esto dio como resultado una osmolaridad muy alta, más del doble de la del fluido extracelular fisiológico (Crompton et al., 2007, *Biomaterials*, 28: 441-449; y Hoemann et al., 2005, *Osteoarthritis Cartilage*, 13: 318-329). Idealmente, el hidrogel debe ser isotónico con el fluido extracelular; y su osmolaridad debe estar alrededor de 300 mOsm. La osmolaridad es un factor regulador de la biocompatibilidad muy importante del hidrogel con las células *in vitro* o *in vivo*.

Además, en un intento de mejorar las propiedades de gelificación del sistema quitosano-GP, particularmente para composiciones isotónicas, la solicitud de Patente de EE.UU. N° de publicación 2009/0202430 propuso la adición de glioxal como agente reticulante químico. En otra descripción, se ha combinado una composición particular del sistema quitosano-GP con sangre en un intento de mejorar y estabilizar los coágulos de sangre (Patente de EE.UU. N° 7.148.209 y solicitud de Patente de EE.UU. N° de publicación 2010/0178355).

Las solicitudes de patentes de EE.UU. N° 2009/0270514 y 2010/0113618 describieron la preparación de soluciones de quitosano termogelificantes utilizando, en lugar de  $\beta$ -GP, bien solución de  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  o solución de NaOH, respectivamente. Sin embargo, el uso de sales fosfato de amonio o todas las sales derivadas de bases orgánicas como se describe en la solicitud de patente de EE.UU. N° 2009/0270514 puede ser nocivo o perjudicial para las células y tejidos vivos, incluso si están a una concentración que conduzca normalmente a soluciones de quitosano termogelificantes isotónicas. La solicitud de patente de EE.UU. N° 2010/0113618 estaba restringida al quitosano reacetilado que tiene un grado de desacetilación (DDA) que varía del 30 al 60%. Por otra parte, la solución de NaOH se añade previamente con alta concentración de 1,3-propanodiol, un reactivo orgánico que puede ser potencialmente tóxico para las células y tejidos vivos. A pesar de la ligera mejora proporcionada por el uso de poliosas o polioles en lugar de 1,3-propanodiol, como se describe en la solicitud de patente de EE.UU. N° 2009/0004230, el problema de toxicidad sigue sin resolverse, por lo que el sistema no puede ser una matriz adecuada para células, proteínas sensibles o tejidos vivos. Finalmente, la solicitud de patente WO 02/00272 A2 muestra que la glucosamina puede ser añadida al GP con el fin de lograr una composición de quitosano termogelificante isotónica con un pH de 6,8, como se desea.

También se sabe que se puede utilizar una solución de sal bicarbonato, como  $\text{NaHCO}_3$ , una base débil, para aumentar el pH de la solución de quitosano en la proximidad de 6,5 sin provocar ninguna precipitación, pero la solución resultante es incapaz de convertirse en hidrogel homogéneo en el intervalo de temperaturas entre 0 y 50°C. De hecho, se puede observar una pseudogelificación, que se producen en la superficie de la solución provocada por la liberación de  $\text{CO}_2$ , como ha sido recogido por un estudio reciente (Liu et al., 2011, *Int. J. Pharm.*, 414: 6-15). En tal caso, para lograr la gelificación de la totalidad de la muestra, es necesario romper la solución y llevar la solución no gelificada a la superficie desde la parte inferior de la muestra. Esto conduce a un hidrogel no homogéneo.

Por tanto, todavía existe la necesidad de proporcionar un mejor quitosano termogelificante.

## Sumario

De acuerdo con la presente descripción se proporciona ahora una composición termogelificante biocompatible que comprende quitosano; y un tampón como se define en las reivindicaciones.

En una realización, la composición es líquida a un pH entre 6,5 y 7,6 y a una temperatura entre aproximadamente 15°C y aproximadamente 22°C, y forma un gel cuando se calienta hasta un intervalo de temperaturas entre aproximadamente 25 y aproximadamente 60°C.

La composición descrita en la presente memoria también puede formar geles cuando se enfría hasta una temperatura entre aproximadamente 8°C y aproximadamente 1°C, a una temperatura alrededor de 4°C.

También se proporciona en la presente memoria un método para preparar una composición termogelificante de quitosano, que comprende las etapas de disolver quitosano en una solución ácida para obtener una solución acuosa de quitosano; y mezclar una solución tampón con la solución acuosa de quitosano, para obtener la composición termogelificante de quitosano como se describe en la presente memoria.

En una realización, la temperatura se mantiene entre 15°C y 22°C (intervalo de la temperatura ambiente) durante la preparación.

De acuerdo con la presente descripción, se proporciona también un método para suministrar un material o compuesto a un sujeto que lo necesite, que comprende las etapas de mezclar la composición termogelificante descrita en la presente memoria con el material o compuesto; y administrar al sujeto la composición mezclada y el material y/o compuesto.

Se proporciona también un método para tratar, reparar, regenerar, recolocar o sustituir un tejido u órgano dentro de un cuerpo de mamífero o ser humano, que comprende la etapa de administrar la composición descrita en la presente memoria.

Se proporciona también el uso de la composición descrita en la presente memoria para tratar, reparar, regenerar, recolocar o sustituir un tejido u órgano dentro de un cuerpo de mamífero o ser humano.

La solución tampón es una solución de carbonato de amino-azúcar, una solución de fosfato de amino-azúcar o una solución de amino-azúcar fosforilado.

En otra realización, la solución tampón es una solución de carbonato de glucosamina, una solución de fosfato de glucosamina o una solución de glucosamina-6-fosfato.

- 5 La composición termogelificante descrita en la presente memoria puede tener un pH entre 6,7 y 7,2.

En otra realización, la composición termogelificante está en estado líquido a una temperatura entre 15°C y 22°C.

En una realización adicional, la composición termogelificante se convierte en gel cuando se calienta hasta una temperatura de 37°C o se enfría hasta una temperatura alrededor de 4°C.

- 10 La concentración de quitosano puede variar del 0,1% al 5,0% o del 1,0% a aproximadamente 3,0%; la concentración de carbonato de glucosamina, fosfato de glucosamina o glucosamina-6-fosfato puede variar desde 0,002M hasta 0,100M.

En una realización preferida, la relación de quitosano a carbonato de glucosamina, de quitosano a fosfato de glucosamina y/o la relación de quitosano a glucosamina-6-fosfato es aproximadamente entre 1 y 3. Existe una relación directa entre esta relación y el pH de la composición termogelificante y las temperaturas de gelificación.

- 15 En otra realización, el quitosano tiene un grado de desacetilación (DDA) que varía entre 70% y 100% y un peso molecular (Pm) que varía desde 50 kDa hasta 1000 kDa; preferiblemente un DDA de 80% a 99% y un Pm de 200 kDa a 500 kDa.

- 20 En otra realización, la composición termogelificante puede comprender además al menos un material o compuesto, tal como por ejemplo, aunque sin limitación, de células, células madre, péptidos, factores de crecimiento, sangre humana, plasma rico en plaquetas, nucleótidos, fármacos y/o agentes formadores de imágenes.

En otra realización, la osmolaridad de dicha composición está entre 270 mOsmol/kg y 340 mOsmol/kg.

En otra realización, la composición se inyecta en un defecto de un tejido de un paciente y a continuación gelifica en el defecto del tejido.

- 25 En una realización alternativa, la composición se pregelifica antes de ser inyectada en un defecto de un tejido de un paciente.

En una realización adicional, la composición se administra con el fin de tratar, reparar, regenerar, recolocar o sustituir, total o parcialmente, un tejido u órgano dentro de un cuerpo de mamífero o ser humano.

En otra realización, la composición se inyecta por vía intraarticular para tratar o mejorar las funciones de las articulaciones del cuerpo, o para reparar defectos de los cartilagos.

- 30 En otra realización, el material o el compuesto es partículas de fosfato cálcico a una concentración comprendida entre 1,0% y 40,0%.

Las partículas de fosfato cálcico pueden ser fosfatos cálcicos bifásicos, fosfatos tetracálcicos, fosfatos tricálcicos, hidroxiapatita, fosfatos dicálcicos, fosfatos monocálcicos, fosfatos cálcicos amorfos, fosfato octacálcico, fosfato cálcico fluorado, fosfato cálcico con estroncio o una de sus mezclas.

- 35 Especialmente, las partículas de fosfato cálcico bifásico tienen un tamaño de 50 a 1000 micrómetros.

Más particularmente, los fosfatos cálcicos bifásicos comprenden de 20% a 85% de fosfato tricálcico; y de 80% a 15% de hidroxiapatita.

En una realización adicional, la composición se inyecta y administra en forma de un gel homogéneo.

- 40 Particularmente, el gel homogéneo tiene un tiempo de gelificación de 1 minuto a 30 minutos, y se convierte en un armazón sólido compuesto.

### Breve descripción de los dibujos

Habiendo descrito así en general la naturaleza de la invención, se hará ahora referencia a los dibujos que se acompañan.

- 45 La Fig. 1 ilustra la evolución del módulo elástico y el módulo viscoso con la temperatura de una composición termogelificante que tiene un valor de pH alrededor de 6,7 (DDA del quitosano = 98%) como se describe en la presente memoria.

La Fig. 2 muestra una composición termogelificante como se describe en la presente memoria que experimenta termogelificación dual. Esta imagen típica ilustra la termogelificación dual obtenida para una solución de quitosano (DDA = 80% o 98%) neutralizada bien con solución tampón de carbonato de glucosamina o con solución tampón de fosfato de glucosamina.

## 5 Descripción detallada

Se proporciona una solución acuosa de quitosano neutralizada con solución tampón de carbonato de amino-azúcar, con solución tampón de fosfato de amino-azúcar o con solución tampón de amino-azúcar fosforilado. La composición de quitosano termogelificante resultante es altamente biocompatible, isotónica y tiene la capacidad de convertirse rápidamente en gel por calentamiento hasta la temperatura corporal. En una realización preferida, la solución de quitosano se neutraliza, con una solución tampón de carbonato de amino-azúcar, con una solución tampón de fosfato de glucosamina o con una solución tampón de glucosamina-6-fosfato dibásico.

La presente descripción describe la preparación de hidrogeles de quitosano termogelificantes neutralizados con una solución tampón de carbonato de glucosamina, fosfato de glucosamina y/o glucosamina-6-fosfato. El carbonato de glucosamina y el fosfato de glucosamina son sales en las que el catión no es otro que la glucosamina cargada positivamente, que es la unidad repetitiva en el quitosano propiamente dicho. Cualquier glucosamina o glucosamina-6-fosfato se encuentra abundantemente en el tejido y articulaciones humanos y mejora la biocompatibilidad y bioactividad de las soluciones de quitosano termogelificantes.

Las soluciones de quitosano termogelificantes descritas en la presente memoria son neutras y altamente biocompatibles, y se pueden utilizar en una amplia gama de aplicaciones biomédicas como hidrogeles inyectables para el suministro controlado y prolongado de fármacos, proteínas y factores de crecimiento, rellenos inyectables, materiales compuestos inyectables, como materiales adhesivos para los tejidos y apósitos para heridas y como armazones para aplicaciones de ingeniería de tejidos.

En la presente memoria se describe la preparación de una solución de quitosano, que tiene un pH fisiológico, capaz de experimentar termogelificación por calentamiento alrededor de la temperatura corporal. En un aspecto, la solución de quitosano termogelificante o termoendurecible se prepara mezclando cantidades apropiadas de solución de carbonato de glucosamina o de solución de fosfato de glucosamina con solución de quitosano a la temperatura ambiente, preferiblemente entre 15 y 22°C, bajo agitación vigorosa. Se ha encontrado que las soluciones resultantes, incluso a pH entre 6,7 y 7,2, permanecen en estado líquido a temperatura ambiente y se convierten en hidrogeles cuando se calientan hasta 37°C o superior. Se ha encontrado que el tiempo requerido para que se produzca la gelificación depende principalmente de la temperatura y del pH de la solución final, que a su vez depende de la cantidad de solución de hidrogenofosfato de glucosamina, denominada "solución tampón", y de la concentración de solución de quitosano. En un aspecto, el pH final de una solución de quitosano termogelificante eficaz debe ser al menos aproximadamente 6,7. En una realización separada, las soluciones de quitosano termogelificantes pueden formar también hidrogeles por enfriamiento hasta una temperatura entre 8 y 1°C.

La composición de quitosano termogelificante descrita en la presente memoria es altamente biocompatible con células, proteínas sensibles y tejidos vivos, como carbonato de glucosamina o fosfato de glucosamina, y se utilizan como soluciones tampón, conservándose las virtudes de la glucosamina. La glucosamina es un amino-azúcar sintetizado naturalmente de glucosa y glutamina, un aminoácido. Es abundante en las articulaciones humanas donde es un precursor clave para la síntesis bioquímica de diversos compuestos que incluyen glicolípidos, glicoproteínas, glicosaminoglicanos, hialuronato y proteoglicanos. Todos estos compuestos están presentes en el cartílago y otros componentes de las articulaciones donde cumplen importantes funciones para la resiliencia y lubricación de las articulaciones.

Con la edad, el cuerpo pierde gradualmente su capacidad para convertir la glucosa y la glutamina en glucosamina, debido a los menores niveles de la enzima convertidora, la glucosamina-sintetasa. Se ha sugerido que esta disminución gradual es uno de los factores principales que contribuyen a las enfermedades degenerativas de las articulaciones, tal como la osteoartritis (OA). Estudios en grupos clínicos y declaraciones de pacientes apoyan el hecho de que un suplemento diario de glucosamina durante un período de tiempo puede tener efectos beneficiosos para los pacientes con OA. Aparentemente, la glucosamina podría actuar para mejorar la resiliencia del cartílago estimulando *in vivo* la biosíntesis del glucosaminoglicano.

El exoesqueleto de los crustáceos, tales como cáscaras de gambas, cangrejos y langostas, son generalmente la fuente de glucosamina comercial, que se obtiene por la descomposición o degradación de quitosano en la unidad monómera.

Los estudios clínicos y las declaraciones de pacientes apoyan el hecho de que un suplemento diario de glucosamina durante un período de tiempo puede tener efectos beneficiosos para los pacientes con OA. Desde un punto de vista de seguridad, los estudios en seres humanos han documentado consecuentemente que la administración de glucosamina no afectó a los niveles en plasma de glucosa ni de insulina, a la sensibilidad a la insulina o a la oxidación de la glucosa (Scroggie et al., 2003, *Archives of Internal Medicine*, 163: 1587-1590; Pouwels et al., 2001, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 86: 2099-2103; y Monauni et al., 2000, *Diabetes*, 49: 926-935). Esto indica que la glucosamina no

tuvo efecto significativo sobre el metabolismo de la glucosa en sangre, incluso en pacientes con *diabetes mellitus* tipo 2.

Anderson y colaboradores revisaron los datos de pruebas clínicas registrados de más de 3000 pacientes y establecieron que la administración oral de glucosamina fue de moderada a altamente eficaz en el tratamiento del dolor por osteoartritis y no tuvo efectos adversos en sangre, orina o parámetros fecales (Anderson et al., 2005, *Food and Chemical Toxicology*, 43: 187-201). Además, la revisión resume los resultados de dosis muy altas de glucosamina administradas oralmente a ratas, ratones, conejos, perros y caballos, como se documentó en casi 20 estudios con animales. Se estimó que la DL<sub>50</sub> excedía 5000 mg/kg para ratas y 8000 mg/kg para ratones y conejos. La investigación también mostró que la ingestión de glucosamina a dosis altas, que variaban desde 300 hasta 2149 mg/kg de peso corporal, no tiene ningún efecto sobre los niveles de glucosa en sangre en ratas, conejos o perros. Además, en cincuenta y cuatro pacientes ambulatorios con gonartrosis, se realizó una prueba clínica doble ciego con el objetivo de evaluar la eficacia y tolerancia de glucosamina intraarticular en comparación con un placebo de NaCl al 0,9%. A cada paciente se le puso una inyección intraarticular a la semana durante cinco semanas consecutivas. Se registraron el dolor, la movilidad activa y pasiva de la articulación, la inflamación y los síntomas de intolerancia generalizados y locales antes de comenzar el tratamiento y cuatro semanas después de la última inyección. La glucosamina redujo el dolor en un grado significativamente mayor que el placebo y dio como resultado que los pacientes estuvieran significativamente más libres de dolor. El ángulo de flexión de la articulación aumentó considerablemente después del tratamiento con glucosamina. La movilidad activa aumentó con ambos tratamientos, con una tendencia más favorable después de la administración de glucosamina. La inflamación de la rodilla no disminuyó significativamente después de la glucosamina, mientras que empeoró (aunque no significativamente) después del placebo. No hubo síntomas de intolerancia locales ni generales durante y después del tratamiento.

La administración de glucosamina podía acelerar la recuperación de pacientes artrósicos, sin efectos secundarios resultantes, y restaurar parcialmente la función articular. Además, la recuperación clínica no desapareció después que terminaba el tratamiento, si no que al menos duraba los siguientes meses. Por tanto se demostró que la terapia con glucosamina merece un lugar seleccionado en el tratamiento de la osteoartritis (Vajaradul et al., 1981, *Clin Ther.*, 3: 336-343). El quitosano está registrado como GRAS (generalmente reconocidos como seguros). La composición y los materiales de quitosano han sido ampliamente analizados *in vitro* así como *in vivo*, tanto en animales como en seres humanos. *In vitro*, las composiciones de quitosano se han analizado con varias líneas celulares, incluyendo células Caco-2, HT29-H, CCRF-CEM (leucemia linfoblástica humana) y L132 (células pulmonares embrionarias humanas), MCF7 y COS7 (Kean et al., 2010, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62: 3-11; Richardson et al., 1999, *Int. J. Pharm.*, 178: 231-243; Schipper et al., 1996, *Pharm. Res.*, 13: 1686-1692; Schipper et al., 1999, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 8: 335-343; y Zhang, et al., 2008, *Biomaterials*, 29: 1233-1241).

*In vivo*, las composiciones y los materiales de quitosano se han analizado en varios modelos animales y por varias vías de administración. El quitosano se ha estudiado sin riesgo en modelos de ratón (inmunogenicidad), modelos de rata, modelos de cobaya y modelos de conejo (toxicidad subaguda). No se observaron "efectos tóxicos significativos" del quitosano en ensayos de toxicidad aguda en ratones, ni irritación de ojos ni piel en conejos y cobayas, respectivamente. En el mismo estudio también se llegó a la conclusión de que el quitosano no era pirógeno. La exposición de la mucosa nasal de ratas a las soluciones de quitosano al 0,5% (p/v) durante más de 1 hora no provocó cambios significativos en la morfología celular de la mucosa en comparación con el control. De la mayoría de los estudios documentados parece que el quitosano muestra efectos tóxicos mínimos y esto justifica su selección como un material seguro en la administración de fármacos. Los sistemas quitosano/l-glicerofosfato se han investigado *in vitro*, *in vivo* en modelos animales y en seres humanos, y han mostrado un perfil seguro y no tóxico (Hirano et al., 1991, *Agric. Biol. Chem.*, 55: 2623-2625; Ono et al., 2000, *J. Biomed. Mater. Res.*, 49: 289-295; Azad et al., 2004, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, 69: 216-222; Ishihara et al., 2001, *Wound Repair Regen.*, 9: 513-52; e Illum et al., 1994, *Pharm. Res.*, 11: 1186-1189).

En los seres humanos, una prueba clínica de fase 2 que implica la inyección percutánea del complejo quitosano-<sup>166</sup>holmio, para el tratamiento de carcinoma hepatocelular, en pacientes con perspectivas quirúrgicas malas, dio resultados seguros y eficaces. Los efectos del quitosano se investigaron en ochenta pacientes con insuficiencia renal sometidos a tratamiento de hemodiálisis estable de larga duración. Los pacientes se analizaron después de un período de tratamiento de control de 1 semana. A la mitad se les administraron 30 comprimidos de quitosano (45 mg de quitosano/comprimido) tres veces al día. La ingestión de quitosano redujo eficazmente los niveles de colesterol en suero total (desde 10,14 +/- 4,40 hasta 5,82 +/- 2,19 mM) y aumentó los niveles de hemoglobina en suero (desde 58,2 +/- 12,1 hasta 68 +/- 9,0 g L<sup>-1</sup>). Durante el período de tratamiento, no se observaron síntomas clínicamente problemáticos. Los resultados sugieren que el quitosano podría ser un tratamiento eficaz para pacientes con insuficiencia renal, aunque debe investigarse más el mecanismo del efecto.

El quitosano también se administró por vía intranasal para suministrar morfina a pacientes después de cirugía ortopédica, y se demostró que ofrecía una alternativa segura y menos invasiva que la morfina intravenosa (IV). Se realizó un estudio clínico y farmacocinético para un sistema de administración de fármacos (DDS) de la barra de quitosano cargada con gentamicina con el fin de evaluar su eficacia y dar más datos para sus aplicaciones clínicas. Se trataron dieciocho (18) casos de osteomielitis crónica por necrectomía quirúrgica con implantación de una barra de quitosano cargada de gentamicina en la cavidad ósea preparada. Se siguieron los 18 casos durante 24,8 meses (en un intervalo de 6-34 meses), 16 pacientes recibieron una cura inicial y sin ninguna recidiva. Así, se podría llegar a la

conclusión de que el DDS del quitosano cargado con gentamicina era un método sencillo y eficaz para el tratamiento de osteomielitis crónica sin necesidad de realizar una segunda operación para eliminar el vehículo del fármaco.

En China, se observó la acción del quitosano en 12 pacientes para prevenir o reducir con seguridad la adhesión del codo después de artroplastia de codo. Se investigó de nuevo en seres humanos para evitar la adhesión a la rodilla después de una operación de rótula (Kim et al., 2006, *Clin. Cancer Res.*, 12: 543-548; Jing et al., 1997, *J. Pharm. Pharmacol.*, 49 (7): 721-723; Stoker et al., 2008, *Pain Med.*, 9: 3-12; y Chen et al., 1998, *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 12: 355-358).

En Estados Unidos están en curso (reclutamiento) o terminadas varias pruebas clínicas que implican composiciones o materiales de quitosano con fines de administración de fármacos o implantes médicos. Los materiales de quitosano son, o han sido, estudiados clínicamente en pacientes para el tratamiento de la epistaxis espontánea difícil y para evaluar su efecto curativo sobre la mucosa nasal, para investigar la seguridad y eficacia de la hemostasia del apósito para su uso en procedimientos quirúrgicos dentales, para analizar una almohadilla de quitosano después de angiografía coronaria percutánea de diagnóstico como un auxiliar a la compresión manual para mejor control de la hemorragia en el sitio de acceso vascular y reducir el tiempo hasta la hemostasia, para investigar una composición de quitosano como un desbridamiento seguro y eficaz de las heridas crónicas en el quirófano y en el ámbito hospitalario y para minimizar la re-colonización bacteriana de heridas, para investigar los beneficios terapéuticos de la utilización de una composición de quitosano para la reparación de heridas de úlceras neuropáticas en pies diabéticos, para comparar la eficacia de una composición de quitosano frente al tratamiento convencional en el tratamiento de úlcera neuropática de pie diabético, para investigar un nuevo derivado de quitosano para reducir los síntomas asociados con el síndrome del ojo seco, y para investigar si el tratamiento del cartílago dañado en la rodilla con una composición de quitosano aumentará la cantidad y calidad del tejido de reparación del cartílago en comparación con la microfractura sola. Por otra parte, los materiales de quitosano son, o han sido, estudiados clínicamente en pacientes para determinar si el quitosano, un quitosano de cadena corta con un peso molecular de 40 kDa, es seguro y eficaz en la disminución de los niveles de colesterol LDL en pacientes con niveles de colesterol leves a moderadamente elevados (fármaco) y comparar la seguridad e inmunogenicidad de dos niveles de dosificación de la vacuna VLP de Norwalk con adyuvantes/excipientes de quitosano.

También se describe en la presente memoria la preparación de soluciones de quitosano termogelificantes altamente biocompatibles usando glucosamina-6-fosfato de origen natural en solución o en forma sólida. El glucosamina-6-fosfato es el producto intermedio en la vía que conduce a la biosíntesis natural de glucosamina, reconocido como el precursor bioquímico de todos los azúcares que contienen nitrógeno (Roseman, 2001, *J. Biol. Chem.*, 276: 41527-41542), que son constituyentes importantes de las glicoproteínas y de los oligosacáridos implicados en el reconocimiento biológico. Específicamente, el glucosamina-6-fosfato se sintetiza a partir de fructosa-6-fosfato y glutamina (Ghosh et al., 1960, *J. Biol. Chem.*, 235: 1265-1273) como la primera etapa de la vía de biosíntesis de la hexosamina. El producto final de esta vía es uridina-difosfato-N-acetilglucosamina o UDP-GlcNAc, un nucleótido-azúcar utilizado entonces para la preparación de glicosaminoglicanos, proteoglicanos y glicolípidos.

En la presente memoria se concibe que se puede utilizar cualquier amino-azúcar fosforilado como se ha descrito anteriormente. Además, contrariamente a la Patente de EE.UU. Nº 6.344.488, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia, que enseña el uso de monofosfato de polioles y azúcares (polioles y azúcares fosforilados), cualquier experto en la técnica apreciará que la presente descripción se refiere a la utilización de amino-azúcares que son diferentes de azúcares y/o polioles.

El término azúcar se refiere a un número de carbohidratos, tales como monosacáridos, disacáridos u oligosacáridos. Los monosacáridos se denominan también "azúcares sencillos" y tienen la fórmula  $C_nH_{2n}O_n$ , donde n está entre 3 y 7. La glucosa, que tiene la fórmula molecular  $C_6H_{12}O_6$ , es el monosacárido más importante. Los carbohidratos son en realidad polihidroxialdehídos, denominados aldosas, o polihidroxicetonas, denominadas cetosas, mientras que los polioles son simplemente alcoholes que contienen múltiples grupos hidroxilo. Las composiciones de quitosano descritas en la técnica, tal como en la Patente de EE.UU. Nº 6.344.488, abarcan azúcares que son monosacáridos, tales como mono-fosfato di-básico-azúcares, mono-sulfato-azúcares y mono-carboxílico-azúcares.

Un amino-azúcar como se incluye en la presente memoria es un azúcar en el que un grupo hidroxilo está sustituido con un grupo amina. Los derivados de azúcares que contienen amina, tal como N-acetilglucosamina, aunque no contengan formalmente una amina, se consideran también amino-azúcares.

La fosforilación es la adición química de un grupo fosfato ( $PO_4$ ) a una proteína, azúcar u otra molécula orgánica. Tal como se usa en la presente memoria, el glucosamina-6-fosfato se refiere a la glucosamina fosforilada en el carbono 6.

Como se usa en la presente memoria, "solución de carbonato de amino-azúcar" o "solución de fosfato de amino-azúcar" se refiere a una solución que contiene amino-azúcar cargado positivamente ( $+ NH_3$ -azúcar) entre contraiones necesarios para equilibrar  $CO_3^{2-}$  y  $PO_4^{3-}$  cargados negativamente, de modo que la carga total sea cero.

Como se usa en la presente memoria, "solución de amino-azúcar fosforilado" se refiere a una solución en la que el ion cargado negativamente es el amino-azúcar-fosfato (amino-azúcar-O- $PO_3^{2-}$ ).

El término "temperatura de gelificación" se pretende que signifique cualquier temperatura que varíe desde aproximadamente 25°C hasta aproximadamente 70°C, preferiblemente entre 37°C y aproximadamente 60°C, y más preferiblemente a aproximadamente la temperatura fisiológica o 37°C.

5 La expresión "gelificación *in situ*" se refiere en la presente memoria a la formación de geles después de la inyección de la solución líquida de quitosano como se enseña en la presente memoria dentro de sitios específicos de entornos de mamíferos o seres humanos, por ejemplo, cualesquiera tejidos (músculos, hueso, ligamentos, cartílagos) y órganos. La gelificación *in situ* permite el llenado completo y preciso de defectos de tejidos o cavidades corporales. La gelificación de la mezcla de quitosano es inducida por la temperatura fisiológica.

10 Un gel de quitosano como se enseña en la presente memoria es un material ideal para el sistema de administración de fármacos. Como un vehículo formador de compuestos gelatinosos *in situ*, al que se incorpora un sólido en partículas o aditivo soluble en agua antes de la gelificación, se puede administrar por vía tópica, directamente al sitio del cuerpo que se ha de tratar o diagnosticar. Se pueden incorporar dentro de la composición y el gel, agentes antibacterianos, antifúngicos, anti-inflamatorios esteroides o no esteroides, anti-cáncer, antifibrosis, antivirales, antiglucomas, mióticos y anti-colinérgicos, antipsicóticos, antihistamínicos y descongestionantes, anestésicos y antiparasitarios. De manera similar, se pueden incorporar dentro de la composición o el gel, polipéptidos o agentes farmacéuticos no vivos con fines restauradores, reconstructores o regenerativos.

La presente descripción se entenderá más fácilmente con referencia a los siguientes ejemplos que se dan para ilustrar las realizaciones y no para limitar su alcance.

### Ejemplo I

#### 20 Preparación de una mezcla de solución tampón de quitosano

##### 1. Preparación de la solución de quitosano

Se preparó una solución de quitosano (2,00% p/v) disolviendo quitosano de calidad médica, que tenía un peso molecular medio, en solución acuosa de HCl. La relación de HCl en comparación con el grupo amino (NH<sub>2</sub>) del quitosano, denominado grado de protonación de quitosano en solución, se mantuvo en el 70%. La solución se esterilizó usando un autoclave durante 30 minutos a 121°C. Después de enfriar, el agua perdida por el tratamiento en autoclave se compensó añadiendo agua estéril en un medio aséptico controlado. A continuación la solución se filtró asépticamente por una frita metálica, se repartió en partes alícuotas de 5,0 mL y se conservó a 4°C. Se utilizó una parte alícuota adicional de alrededor de 3 mL para medir el pH de la solución de quitosano. Las características de las soluciones de 100 mL preparadas usando quitosano que tenía un DDA de aproximadamente 80% y 98%, se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1

Características de una solución de quitosano (100 mL)

DDA del quitosano (%)	m (g)	H <sub>2</sub> O (mL)	HCl 1M (mL)	pH
80	2,0566	93,20	6,80	5,51
98	2,0586	91,26	8,74	5,50

##### 2. Preparación de soluciones tampón

35 La solución tampón de carbonato de glucosamina se obtuvo disolviendo simultáneamente hidrócloruro de glucosamina y carbonato de sodio en agua, mientras que la solución tampón de fosfato de glucosamina se preparó disolviendo simultáneamente hidrócloruro de glucosamina y fosfato de potasio tribásico. Las cantidades de sal usadas para la preparación de 50 mL de cada solución tampón se resumen en la Tabla 2. Generalmente, el pH de la solución tampón se mantiene entre 7,60 y 8,00 para el carbonato de glucosamina y entre 8,10 y 8,50 para el fosfato de glucosamina.

40 Para una estabilidad a largo plazo, las soluciones tampón de carbonato de glucosamina y fosfato de glucosamina deben conservarse a una temperatura muy baja, por debajo de -20°C, preferiblemente -80°C. Esto puede prevenir o detener una probable reacción de Maillard, que se sospecha que es la causante de la degradación, revelada por la coloración parda, de las soluciones tampón cuando se conservan a temperaturas superiores a 0°C. Técnicamente, para resolver este problema, las soluciones tampón de carbonato de glucosamina y fosfato de glucosamina se pueden preparar en el momento de su uso mezclando un volumen de solución doblemente concentrada de cloruro de glucosamina con un mismo volumen de solución doblemente concentrada de sales carbonato o mezclando un volu-



men de solución doblemente concentrada de glucosamina con el mismo volumen de solución doblemente concentrada de sales fosfato, respectivamente. Estas soluciones, específicamente la solución de cloruro de glucosamina, solución de carbonato o solución de fosfato, preparadas por separado, se pueden conservar a 4°C durante al menos más de 6 meses. A esta temperatura, no se produce la degradación en soluciones acuosas ácidas del hidrocloreto de glucosamina, mientras que las soluciones acuosas de las sales carbonato o fosfato son bastante estables.

Tabla 2

Cantidades de sal utilizadas para la solución tampón

Componentes	Solución tampón (50 mL)	
	Carbonato de glucosamina	Fosfato de glucosamina
Glucosamina.HCl (g)	8,9808	8,9858
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (g)	2,9704	-
K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (g)	-	5,3562
pH	7,68	8,39

### 3. Preparación de soluciones termogelificantes utilizando carbonato de glucosamina

#### 10 I. DDA del quitosano = 80%

La solución termogelificante se preparó mezclando enérgicamente 5,00 mL de solución de quitosano con 0,56 mL de solución tampón de carbonato de glucosamina, mientras se mantenía la temperatura alrededor de 15°C. La solución resultante que tenía un pH de aproximadamente 6,82 se vertió luego en un tubo de ensayo y se incubó a 37°C, donde gelificó en aproximadamente 10 minutos.

15 En un segundo experimento, se mezclaron con agitación enérgica 5,00 mL de solución de quitosano con 0,50 mL de solución de carbonato de glucosamina, mientras se mantenía la temperatura alrededor de 15°C. La solución resultante que tenía un valor de pH de aproximadamente 6,75 gelificó en 20 minutos a 45°C.

#### II. DDA del quitosano = 98%

20 La solución termogelificante se preparó mezclando enérgicamente 5,00 mL de solución de quitosano con 0,50 mL de solución tampón de carbonato de glucosamina, mientras se mantenía la temperatura alrededor de 15°C. La solución resultante que tenía un pH de aproximadamente 6,8 se vertió luego en un tubo de ensayo y se incubó a 37°C, donde gelificó en aproximadamente 1 minuto.

25 En un segundo experimento, se mezclaron con agitación enérgica 5,0 mL de solución de quitosano con 0,40 mL de solución de carbonato de glucosamina, mientras se mantenía la temperatura alrededor de 15°C. La solución resultante que tenía un valor de pH de aproximadamente 6,7 gelificó en 20 minutos a 45°C. La dependencia de la temperatura del módulo elástico (G') y el módulo viscoso (G'') de esta última solución se muestra en la Figura 1.

### 4. Preparación de soluciones termogelificantes utilizando fosfato de glucosamina

#### I. DDA del quitosano = 80%

30 La solución termogelificante se preparó mezclando con agitación enérgica 5,00 mL de solución de quitosano con 0,60 mL de solución de fosfato de glucosamina, mientras se mantenía la temperatura alrededor de 15°C. La solución resultante que tenía un pH de aproximadamente 7,02 se vertió luego en un tubo de ensayo y se incubó a 37°C, donde gelificó en aproximadamente 7 minutos.

35 En un segundo experimento, se mezclaron con agitación enérgica 5,00 mL de solución de quitosano con 0,50 mL de solución de fosfato de glucosamina, mientras se mantenía la temperatura alrededor de 15°C. La solución resultante que tenía un valor de pH de aproximadamente 6,81 gelificó en 30 minutos a 45°C.

Sin embargo, la composición termogelificante descrita en la presente memoria no se puede obtener ni usando solución de hidrocloreto de glucosamina ni usando solución de glucosamina libre. Como el pH de 3,11 medido para una solución de hidrocloreto de glucosamina 0,55M es mucho menor que el de la solución de quitosano, el pH de la mezcla no sobrepasa un valor de 5,50. Dichas mezclas permanecen líquidas en todo el intervalo de temperaturas,

desde 0 hasta 80°C. En contraste, el uso de la solución de glucosamina libre, con pH de 7,71 y de 8,03, aumenta el pH de la mezcla, pero se produce una precipitación sustancial de quitosano tan pronto como se alcanza un valor de pH entre 6,2 y 6,4.

5 Tampoco se pudo usar una solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  para preparar la composición termogelificante descrita en la presente memoria. Cuando se añade a la solución de quitosano, la alcalinidad relativamente fuerte de dicha solución de carbonato (0,373M), pH aproximadamente 11,5, provoca la precipitación instantánea del quitosano. Entonces se utilizaron ácidos, incluyendo, aunque sin limitación, ácidos orgánicos, tales como ácido glutámico y ácido pirúvico, para suavizar la alcalinidad de la solución de carbonato y proporcionar por tanto la solución tampón para la composición termogelificante descrita en la presente memoria. Sin embargo, se ha encontrado que estas soluciones tampón son menos eficaces que el carbonato de glucosamina y la solución tampón. La Tabla 3 muestra las cantidades necesarias para la preparación de soluciones de carbonato de ácido glutámico con valores de pH de 7,65 y 7,85. Las composiciones resultantes de la mezcla de 5,00 mL de solución de quitosano (DDA = 98%) con 0,50 mL de la solución 1, y con 0,50 mL de la solución 2, tenían un valor de pH de 6,31 y 6,56, respectivamente.

Tabla 3

15 Cantidades necesarias para la preparación de soluciones de carbonato de ácido glutámico

Carbonato de ácido glutámico (50 mL)	Ácido glutámico (g)	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ (g)	pH
Solución 1	4,5675	3,2875	7,65
Solución 2	6,6525	4,9965	7,85

### Ejemplo II

#### Preparación de una solución termogelificante de quitosano utilizando glucosamina-6-fosfato

20 Se preparó solución de quitosano (~2,0% p/v) como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo I. Se preparó la solución termogelificante mezclando 5,0 mL de solución de quitosano refrigerada con 0,5 mL de solución de sal disódica de glucosamina-6-fosfato refrigerada (1 M) en un baño de hielo (~ 4°C) y con agitación enérgica. Después se sacó del baño de hielo la solución resultante que tenía un pH de aproximadamente 7,0 y se llevó a 37°C, donde gelificó en 15 minutos.

### Ejemplo III

#### 25 Procedimientos terapéuticos con composición termogelificante dual

La composición descrita en la presente memoria se puede utilizar para procedimientos terapéuticos mínimamente invasivos, en particular en tejidos musculoesqueléticos, tales como cartílago articular, fibrocartílago y hueso, por nombrar sólo algunos de ellos. La composición descrita en la presente memoria es particularmente adecuada para tratar lesiones de cartílagos articulares y se ha aplicado clínicamente en pacientes que sufren defectos de cartílagos articulares. Esta composición ha sido aplicada por especialistas ortopédicos, bajo un protocolo clínico y bajo el programa de acceso especial (SAP) de Salud de Canadá, para tratar defectos de cartílagos articulares en articulaciones de rodilla de pacientes que sufren lesiones del cartílago de la rodilla, dolor en las articulaciones de rodilla y reducción de las funciones de las articulaciones.

35 En Canadá se trató un total de 9 pacientes, de edades comprendidas entre 18 y 70 años, que tenían estructuras ligamentosas de la rodilla intactas y sufrían lesiones sintomáticas del cartílago en un compartimento, siendo investigadas las lesiones del cartílago con imagen por resonancia magnética (MRI). Todos los pacientes fueron tratados artroscópicamente con el desbridamiento del cartílago articular no adherente y la composición se administró artroscópicamente para llenar y cubrir los defectos del cartílago. Los defectos del cartílago tratados con la composición tenían una superficie de hasta 3 cm x 3 cm. La composición actúa principalmente para rellenar defectos del cartílago articular y renovar las superficies del cartílago lesionado en la articulación. La composición administrada a rodillas de pacientes ha demostrado ser segura, no tóxica y fácil de preparar y administrar. Con un seguimiento post-operatorio de 8 a 9 meses, todos los pacientes tratados con la composición mostraron resultados clínicos positivos claros a partir de los 3 a 6 meses de la operación. Dichos resultados clínicos positivos consistían principalmente en reducción significativa del dolor en la articulación de la rodilla y mejora en la funcionalidad de la articulación de la rodilla y del nivel general de actividad del paciente. La evaluación clínica se realizó usando una puntuación y un cuestionario de tipo WOMAC. La composición propuesta para el tratamiento de lesiones de cartílagos articulares puede ser utilizada para tratar defectos de cartílagos en articulaciones de rodilla y otras articulaciones del cuerpo, especialmente en la cadera y el tobillo.

El tratamiento con la composición descrita en la presente invención se realiza durante el curso de una artroscopia de rodilla. Se lleva a cabo junto con un lavado y desbridamiento y puede estar asociado con una técnica estimulante de la médula ósea (microfractura). La composición se puede aplicar directamente sobre la lesión del cartílago articular.

5 La composición descrita en la presente memoria se prepara fácil y rápidamente durante el curso de un procedimiento de artroscopia de rodilla. Además, puesto que se puede administrar como un inyectable, ventajosamente es administrada muy fácilmente por una artroscopia y no alarga significativamente la duración de los procedimientos artroscópicos.

10 El tratamiento de la lesión del cartílago articular con la composición descrita en la presente memoria redujo el dolor de la articulación de la rodilla y mejoró las funciones de la articulación de la rodilla, proporcionando así mejores funcionalidad de la articulación y nivel de actividad general a los pacientes tratados. Estos efectos beneficiosos se deben notar tan pronto como a los 3 meses de la artroscopia. Este tratamiento puede posponer tratamientos protésicos más agresivos y costosos de las lesiones del cartílago articular.

15 Aunque la descripción se ha realizado en conexión con sus realizaciones específicas, se entenderá que es capaz de modificaciones adicionales y esta solicitud está destinada a cubrir cualesquiera variaciones, usos o adaptaciones de la siguiente descripción, en general, los principios de la descripción incluyendo desviaciones de la presente descripción que están dentro de la práctica conocida o habitual de la técnica a la que pertenece la descripción y que se pueden aplicar a las características esenciales anteriormente expuestas, y como sigue en el alcance de las reivindicaciones que se acompañan.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición termogelificante biocompatible que comprende:

a) una solución de quitosano; y

b) una solución tampón que consiste en una solución de carbonato de amino-azúcar, una solución de fosfato de amino-azúcar o una solución de amino-azúcar fosforilado;

en donde la composición es biocompatible, isotónica y se convierte en gel con el tiempo o disminuyendo o aumentando la temperatura.

2. La composición termogelificante biocompatible de la reivindicación 1, en donde dicha composición forma un gel cuando se calienta hasta un intervalo de temperaturas entre aproximadamente 25°C y aproximadamente 60°C, o se enfría hasta un intervalo de temperaturas entre aproximadamente 8°C y aproximadamente 1°C.

3. La composición termogelificante biocompatible de las reivindicaciones 1 o 2, en donde dicha solución tampón es una solución de carbonato de glucosamina, una solución de fosfato de glucosamina o una solución de glucosamina-6-fosfato.

4. La composición termogelificante biocompatible de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicha composición termogelificante tiene un pH entre 6,7 y 7,2 y se convierte en un gel cuando se calienta hasta una temperatura de 37°C.

5. La composición termogelificante biocompatible de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la concentración de quitosano varía del 0,1% al 5,0% y preferiblemente del 1,0% al 3,0%.

6. La composición termogelificante biocompatible de la reivindicación 3, en donde la concentración de carbonato de glucosamina, fosfato de glucosamina o glucosamina-6-fosfato varía desde 0,002 M hasta 0,100M.

7. La composición termogelificante biocompatible de las reivindicaciones 3 o 6, en donde la relación de quitosano a carbonato de glucosamina, fosfato de glucosamina o glucosamina-6-fosfato está entre 1 y 3.

8. La composición termogelificante biocompatible de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde dicho quitosano tiene un grado de desacetilación (DDA) que varía entre 70% y 100% y un peso molecular (Pm) que varía desde 50 kDa hasta 1000 kDa.

9. La composición termogelificante biocompatible de la reivindicación 8, en donde dicho quitosano tiene un DDA de 80% a 99%, y un Pm de 200 kDa a 500 kDa.

10. La composición termogelificante biocompatible de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la osmolaridad de dicha composición está entre 270 mOsmol/kg y 340 mOsmol/kg.

11. La composición termogelificante biocompatible de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que comprende además al menos un material o compuesto seleccionado del grupo que consiste en células, células madre, péptidos, factores de crecimiento, sangre humana, plasma rico en plaquetas, nucleótidos, hueso, materiales óseos, fosfatos cálcicos, carbonatos cálcicos, biovidrios, cerámicas, fármacos y agentes de formación de imagen.

12. La composición termogelificante biocompatible de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde dicha composición es para uso en el tratamiento, reparación, regeneración, recolocación o sustitución, bien total o parcial, de un tejido u órgano dentro de un cuerpo de mamífero o ser humano.

13. La composición termogelificante biocompatible de la reivindicación 12, en donde el tejido u órgano comprende cartílago articular, fibrocartílago, menisco, discos intervertebrales, tejidos óseos, tejidos musculares, tejidos blandos de los nervios y la médula espinal, piel o tejidos dérmicos.

14. La composición termogelificante biocompatible de la reivindicación 12, en donde la composición es para uso como inyección intraarticular para tratar o mejorar las funciones de las articulaciones del cuerpo, o para reparar defectos de los cartílagos.

15. La composición termogelificante biocompatible de la reivindicación 11, en donde dicho al menos un material o compuesto es partículas de fosfato cálcico a una concentración que comprende entre 1,0% y 40,0% y dicha composición es para uso en tratamiento, relleno o reparación de huesos o defectos óseos durante el curso de una cirugía dental, maxilofacial, espinal u ortopédica o un procedimiento traumatológico.

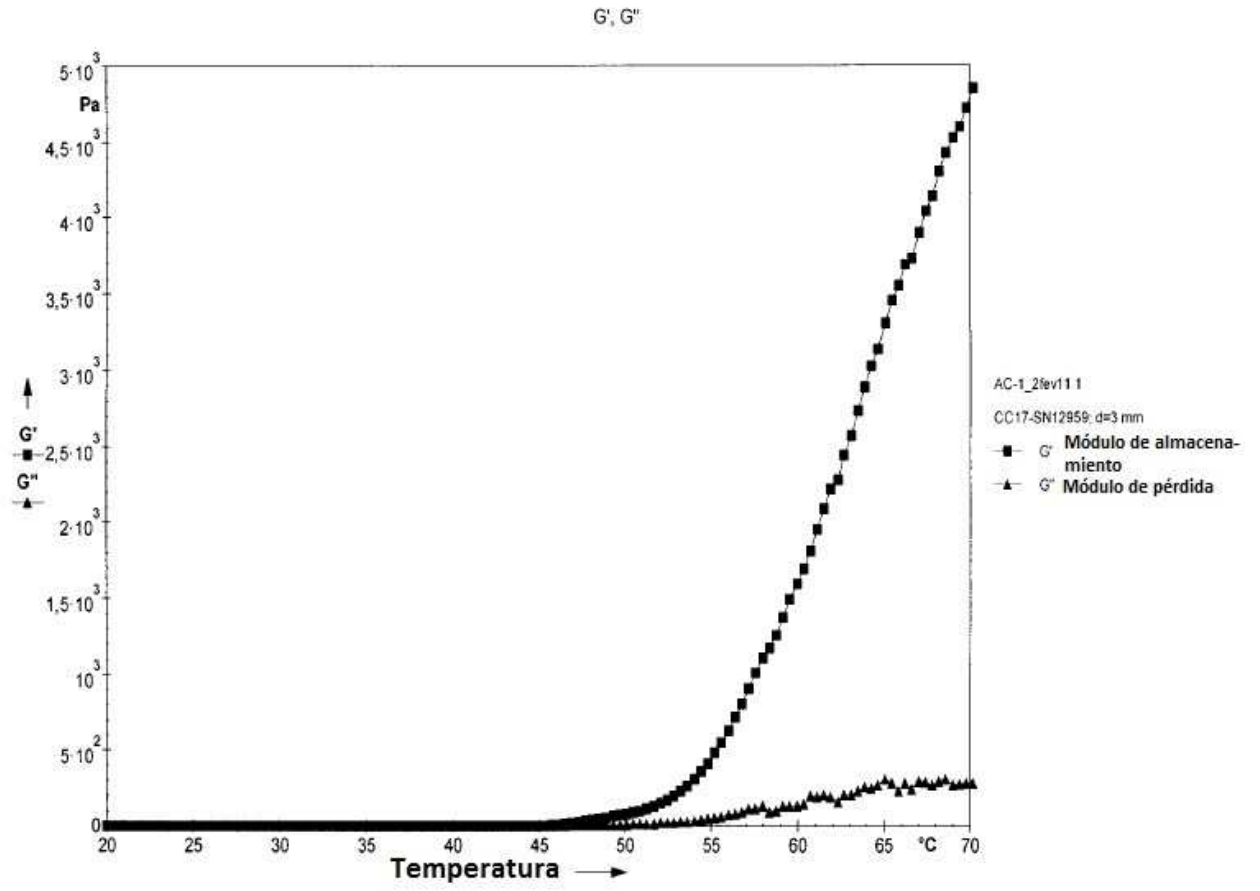


Figura 1

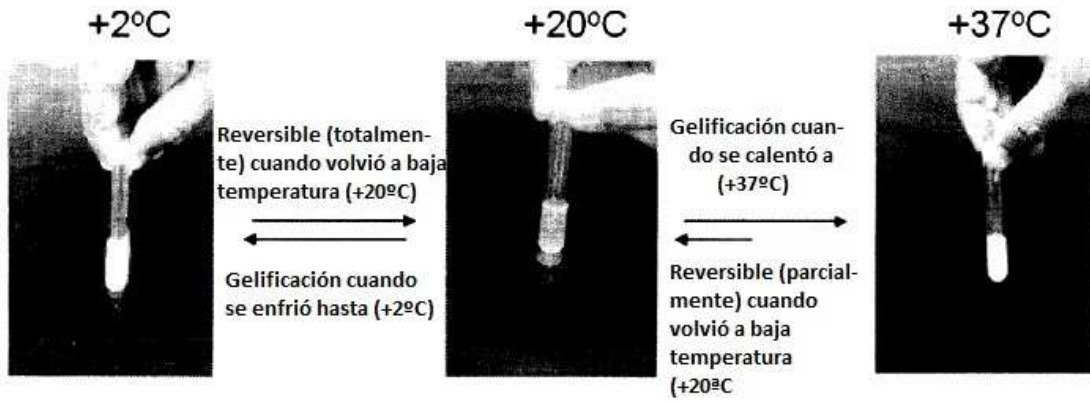


Figura 2