



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial



(21) BR 102023004207-4 A2

(22) Data do Depósito: 07/03/2023

(43) Data da Publicação Nacional:
17/09/2024

(54) Título: PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS ESTRUTURADOS TRIDIMENSIONALMENTE PARA A REGENERAÇÃO DE TECIDOS

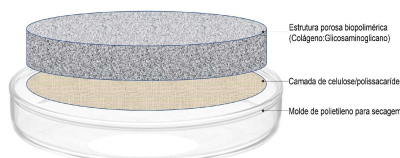
(51) Int. Cl.: A61L 27/24; A61L 27/56; A61L 27/60; C12N 9/00; C08L 5/00.

(52) CPC: A61L 27/24; A61L 27/56; A61L 27/60; C12N 9/00; C08L 5/00.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) Inventor(es): THIAGO BARBOSA CAHÚ; RANILSON DE SOUZA BEZERRA; JOSÉ LUIZ DE LIMA FILHO; MARCELO JOSÉ BORGES DE MIRANDA.

(57) Resumo: PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS ESTRUTURADOS TRIDIMENSIONALMENTE PARA A REGENERAÇÃO DE TECIDOS. A invenção tem por objetivo a preparação de um suporte tridimensional feito de biopolímeros naturais para a regeneração de tecidos. O processo consiste na 1) obtenção de soluções contendo compósitos de biopolímeros, 2) secagem a frio para obtenção de uma matriz porosa contendo biomateriais, 3) montagem da matriz porosa sobre um filme de polissacarídeo; 4) reticulação da matriz porosa e 5) esterilização. A matriz porosa tem por finalidade a regeneração de tecidos.



Processo de preparação de biopolímeros estruturados tridimensionalmente para a regeneração de tecidos

Campo da invenção

[001] A presente invenção se enquadra no campo da regeneração de tecidos e tratamento avançado de lesões onde há perda substancial de tecido, como por exemplo em queimaduras de terceiro grau com perda da espessura total da pele. O processo consiste na obtenção de matriz porosa, constituída por colágeno e glicosaminoglicanos, apoiada sobre um suporte de polissacarídeo.

Fundamentos da invenção

[002] Os polímeros biológicos naturais têm despertado bastante a atenção da comunidade científica nos últimos anos pelas diversas possíveis aplicações desses biomateriais, desde componentes alimentares, cosméticos, carreadores de drogas, atividade e reatividade biológica, etc (Santos, 2006). Muitos polímeros naturais têm sido investigados para preparação de membranas utilizadas em engenharia de tecidos devido a biodegradabilidade e biocompatibilidade, que permitem a integração celular e sua diferenciação, como colágeno, quitina e quitosana (Zhang et al., 2019). Uma importante vantagem dessas moléculas é a interação e atoxicidade com sistemas biológicos, o que aliado a possíveis propriedades bioativas os colocam como excelentes candidatos a substituição de polímeros sintéticos em aplicações biotecnológicas (Cahú et al., 2017).

[003] A utilização de subprodutos do processamento do pescado para a recuperação de biomoléculas como colágenos (Hwang et al., 2007) e enzimas (Bezerra et al., 2005; Assis et al., 2007) tem sido reportada, com

várias aplicações, por exemplo, na indústria farmacêutica e para aplicações biomédicas (FAO, 2016). Diversos trabalhos reportam o uso de cabeças de camarão para a obtenção de hidrolisados protéicos (Gildberg & Stenberg, 2001), carotenóides (Babu et al., 2008; Sachindra & Mahendrakar, 2005; Sachindra et al., 2006), quitina e quitosana (Gildberg & Stenberg, 2001) e glicosaminoglicanos heparina-símile (Brito et al., 2008; Cahú et al., 2012). Quitina, quitosanas (Shang et al., 2018), colágeno e gelatina (Sahithi et al. 2013) têm sido utilizados com o intuito de produzir estruturas biopoliméricas compatíveis, uma vez que tais polímeros naturais reúnem muitas das características necessárias para aplicação em dispositivos biomédicos. Okur e colaboradores (2019) desenvolveram filmes a base destes polímeros e obtiveram dados da eficiência destes filmes, cujo efeito antimicrobiano, aliado a capacidade de angiogênese, cicatrizante e liberação de medicamentos específicos no local da ferida, tornando tais filmes mais eficientes que produtos comerciais análogos. A quitosana tem atividade antimicrobiana, mucoadesiva, hemostática e promove o fechamento de lesões agudas (Cahú et al., 2017), especialmente quando utilizada com outros polímeros naturais como condroitim sulfato e colágeno/gelatina (Chattopadhyay & Raines, 2014).

[004] O colágeno de peixe já é utilizado há alguns anos como alternativa ao bovino e suíno, uma vez que pode ser extraído de pele, bexiga natatória, ossos, escamas e nadadeiras (Zhang et al., 2011). O colágeno é também um biomaterial utilizado para obtenção de filmes, imobilização de proteínas e carreamento de fármacos (Friess, 1998). Esta proteína faz parte da matriz celular e é um dos componentes mais importantes na estrutura do tecido, representando cerca de 50% das proteínas presentes na pele. Filmes incluindo colágeno como componente são comumente

usados, dada a importância desta proteína na remodelação do tecido, no auxílio para atração de novas células, além de sua biocompatibilidade (Friess, 1998; Fonder et. al. 2008). Entre os biopolímeros, o colágeno é um dos mais usados, sendo adequado para preparação de suportes poliméricos biodegradáveis para sistemas de liberação controlada de fármacos, oferecendo a vantagem natural de um biopolímero com propriedades hemostáticas e cicatrizantes (Albu et al., 2011). Estudos com estruturas de colágeno mostraram que a absorção e degradabilidade aliada com a liberação de fármacos pode ser controlada pela reticulação (cross-linking) química ou física do colágeno. Podem ser incorporados em estruturas de colágeno antibióticos e antissépticos, estatinas, anti-inflamatórios, vitaminas, etc (Yarboro et al., 2007).

[005] A produção de quitina e quitosana é, atualmente, baseada na extração a partir de subprodutos da indústria de processamento de pescados, utilizando resíduos do beneficiamento de camarões e caranguejos. Essa obtenção proveniente de cascas de crustáceos é viável economicamente, principalmente quando associada à recuperação de carotenóides, uma vez que o exoesqueleto dos crustáceos contém uma considerável quantidade de astaxantina (Kumar, 2000). As propriedades da quitosana relacionadas à medicina regenerativa incluem a ativação de macrófagos e neutrófilos para iniciar o processo de cura de um ferimento, promoção do tecido de granulação, re-epitelização e enclausuramento de fatores de crescimento que aceleram a regeneração, limitação da formação de cicatriz, estimulação da mobilidade celular modulada por integrina e aumento da angiogênese in vitro. Ademais, a quitosana é não-tóxica, biodegradável, fácil de construir diversas estruturas e pode ser modificada quimicamente e enzimaticamente (Muzzarelli, 2009). A habilidade da quitosana de promover a cura de um ferimento pode ser

atribuída a sua capacidade de formar complexos polieletrólíticos com glicosaminoglicanos (GAGs) e especialmente a heparina, que possui tanto propriedades anticoagulantes como angiogênicas (promove a vascularização do tecido). Os GAGs então entre os blocos de construção essenciais da rede macromolecular de conexão dos tecidos. A similaridade da estrutura química da quitosana com os GAGs evidencia sua possível utilização biomédica (Katalinich, 2001). A cicatrização é um processo complexo que pode sofrer influência de diversos fatores. Certas lesões podem se tornar crônicas, mesmo recebendo tratamento adequado. Filmes a base de quitosana são relatados como excelentes materiais para cicatrização (Rao & Sharma, 2004).

[006] As lesões podem ser classificadas em diferentes tipos, a depender do local de sua ocorrência, da sua aparência e da duração do processo de reparo (Gaspar-Pintilieșcu et al., 2019). Dentre as classificações das lesões, destacam-se os tipos relacionados à duração do processo de reparo em lesões agudas e crônicas. Feridas agudas são geralmente lesões teciduais que cicatrizam completamente, com cicatrizes mínimas e dentro de um prazo considerado aceitável, geralmente de 8 a 12 semanas. As principais causas de feridas agudas incluem lesões mecânicas devido a fatores externos, como escoriações e cortes (Percival, 2002). Outros exemplos de feridas agudas incluem queimaduras e lesões químicas, que surgem de uma variedade de fontes, como radiação, eletricidade e produtos químicos corrosivos (Boateng & Catanzano, 2015). Feridas crônicas, no entanto, surgem de lesões teciduais que cicatrizam lentamente (normalmente não curam dentro de 12 semanas) e podem reaparecer (Gurtner et al., 2008). A lesão crônica muitas vezes é desencadeada pela falta de adaptação a respostas das células imunes à cicatrização, o que pode estar relacionado a condições fisiológicas

subjacentes, como diabetes (Moore et al., 2006). As feridas crônicas podem ser facilmente contaminadas por agentes patogênicos e geralmente envolvem perda significativa de tecido, o que pode afetar estruturas vitais, como ossos, articulações e nervos. Além disso, a falha na cicatrização destas lesões pode levar a uma produção excessiva de exsudatos (fluido que contém vários componentes, como água, eletrólitos, nutrientes, mediadores inflamatórios entre outros compostos que permitem o processo natural de cicatrização), o que também pode comprometer o tecido saudável ao redor da ferida, elevando o nível da dor e o tempo de cicatrização (Boateng & Catanzano, 2015; Lima et al., 2019).

[007] Um curativo ideal para feridas deve se aderir ao tecido lesionado, manter equilibradas as condições de umidade, permitir a troca de oxigênio e de fluídos da lesão e protegê-la contra infecções bacterianas, garantindo assim um microambiente ideal para acelerar o processo de cicatrização (Dhivya et al., 2015). Os curativos existentes e comercializados podem se apresentar como diferentes materiais (sintéticos ou naturais) e com várias formas físicas (esponjas, hidrogéis, hidrocolóides, filmes, membranas). Estas diferentes formulações têm propriedades distintas que as tornam adequadas para o tratamento de um tipo particular de ferida. Por exemplo, esponjas exibem uma enorme porosidade, fornecem isolamento térmico e sustentam a umidade no local da ferida. No entanto, são mecanicamente fracas, podem provocar maceração da pele e são inadequadas para o tratamento de queimaduras de terceiro grau ou feridas com escara seca (Thomas & Uzun, 2004). Além da atividade antimicrobiana, também é importante que os curativos apresentem atividade biológica por si só ou liberem constituintes bioativos (medicamentos) incorporados a eles. Os medicamentos incorporados podem desempenhar um papel ativo no

processo de cicatrização de feridas diretamente, como limpeza ou debridamento do tecido necrótico (Boateng & Catanzano, 2015).

[008] Os curativos e filmes para cicatrização da pele a base de polímeros do pescado possuem propriedades cruciais para a eficiente regeneração tecidual e recomposição do epitélio perdido. Aliando a capacidade de regeneração, biocompatibilidade, atoxicidade e antimicrobiano os filmes compostos por colágeno, glicosaminoglicanos e quitosana extraídos de fontes do pescado tem potencial para agregar valor a cadeia produtora da aquicultura e promover dispositivos biomédicos altamente eficazes. O tratamento de pacientes com perda extensiva de pele, como queimados, pode ser grandemente facilitado com dispositivos. Base de polímeros naturais do pescado, podendo promover uma revolução no tratamento de feridas agudas e crônicas no sistema de saúde, que atualmente não dispõe de alternativas baratas e nacionais para o tratamento de lesões.

[009] Cerca de um milhão de pessoas sofrem queimaduras no Brasil a cada ano (Cruz et al., 2012; Piccolo, 2018; Yannas & Burke, 1980). Em torno de 85% delas, o diagnóstico que prevalece é o de queimaduras de segundo grau; nas restantes predominam a classificação de lesões de terceiro grau (Nascimento et al., 2013).

[0010] O tratamento dessas queimaduras de terceiro grau é complexo e dispendioso (Costa et al., 2015; Moreira et al., 2013). Envolve geralmente várias intervenções no transcorrer da terapêutica, como limpezas cirúrgicas com ou sem balneoterapia, debridamentos, além de autotransplantes de pele (popularmente conhecidos como enxertos de pele) ou rotação de retalhos (Piccolo, 2018; Tavares & Silva, 2015).

[0011] O objetivo principal na condução médica dessas lesões ou de injúrias traumáticas com perda de substância dermo-epidérmica é a

substituição desses tecidos destruídos por uma pele sadia, da forma mais rápida possível e com os melhores resultados estéticos e funcionais.

[0012] O tratamento cirúrgico para a recobertura cutânea continua sendo preferencialmente o autotransplante. Contudo, esses enxertos têm muitas limitações, tais como a necessidade de zonas doadoras de pele, que constituem uma nova ferida, retrações cicatriciais, hiperpigmentação e cicatrizes patológicas (Batista et al., 2012).

[0013] A qualidade da cicatriz, por sua vez, guarda íntima relação com a quantidade de tecido dérmico disponibilizado. É por esse motivo que, apesar de toda a evolução das técnicas de enxertia de pele, tem se buscado, através de recursos da bioengenharia, encontrar alternativas para reproduzir a camada dérmica previamente lesionada, com o objetivo de contribuir para uma melhor recuperação da função e aparência desse tecido.

[0014] Entre elas estão as matrizes de regeneração dérmica (Bolgiani et al., 2013; Farina Jr, 2018) constituídas predominantemente por extratos proteicos. Esses recursos incluem materiais biológicos que exigem rigorosa regulação, sobretudo nos países desenvolvidos. Além desse aspecto há dificuldades no manejo e limitações em suas utilizações, decorrentes do seu alto custo.

[0015] O Integra atualmente é a matriz mais utilizada pela comunidade cirúrgica internacional. Desenvolvida originalmente por John Burke e Ioannis Yannas (1980), ela consta de duas camadas; uma externa, de silicone, e outra interna, composta por colágeno tipo II, de origem bovina e glicosaminoglicanos. Exerce as funções de, como “pele artificial”, proporcionar uma cobertura fisiológica da ferida e viabilizar a regeneração dérmica (neoderme).

[0016] A presente invenção, tendo como base polímeros naturais, com especial destaque para o colágeno da pele da tilápia, em função de excelentes resultados publicados recentemente (Alves et al., 2015; Lima Jr, 2017) e o biopolímero da cana-de-açúcar, pretende oferecer uma nova alternativa de matriz de regeneração dérmica para o fechamento de feridas de terceiro grau ou lesões traumáticas com perda total da substância cutânea, de forma revolucionária, sob o ponto de vista tecnológico e a um baixo custo, direcionado preferencialmente e de forma democrática, aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS).

[0017] A patente BR1020150214359A2 “PROCESSO DE BENEFICIAMENTO DA PELE DA TILÁPIA E SEU USO NA COBERTURA DE LESÕES CUTÂNEAS” descreve a utilização do peixe tilápia e sua pele como curativo biológico oclusivo em lesões cutâneas, como queimaduras e feridas agudas ou crônicas. A patente BR1020180735152A2 “PROCESSO DE OBTENÇÃO DE MATRIZ EXTRACELULAR DE PELE DE TILÁPIA (OREOCHROMIS NILOTICUS) E USO DA MATRIZ EXTRACELULAR DE TILÁPIA” descreve o processo de obtenção da matriz extracelular de pele de tilápia e seu uso aplicado a cicatrização de feridas. A patente BR1020180735101A2 “PROCESSO DE OBTENÇÃO DE PELE DE TILÁPIA LIOFILIZADA E USO DA PELE DE TILÁPIA LIOFILIZADA” descreve o processo de obtenção da pele de tilápia liofilizada e sua aplicação para tratamento de lesões humanas e animais. As referidas patentes diferem da presente invenção por utilizar a própria pele do peixe como estrutura destinada a cicatrização de lesões.

[0018] A patente BR1020180735071A2 “PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE COLÁGENO TIPO I DA PELE DE TILÁPIA E USO DO COLÁGENO TIPO I OBTIDO DA PELE DE TILÁPIA” descreve o processo de extração de

colágeno tipo I da pele de tilápia e o uso do colágeno tipo I obtido da pele da tilápia. A patente reivindica o uso do colágeno tipo I na forma de extração e purificação descrito em composição de ativo ou ingrediente na produção de produtos farmacêuticos, nutracêuticos, da indústria de alimentos e dispositivos médicos. O documento difere da presente invenção que utiliza colágeno solúvel em ácido e/ou colágeno solúvel pela ação de pepsina ou colágeno fibrilar insolúvel de fontes animais diversas.

[0019] Há muitos produtos no mercado destinados ao tratamento de feridas em suas diferentes fases. Entretanto, a utilização de qualquer produto no tratamento de queimaduras ou outros tipos de feridas deve seguir um rigoroso protocolo, buscando identificar a real contribuição para o processo de cicatrização. Os substitutos de pele, de origem animal tem sido considerados úteis no tratamento de queimaduras superficiais, pois reduzem a frequência de trocas dos curativos. Entretanto, esses materiais tem alto custo e não são eficazes para o tratamento de queimaduras profundas.

[0020] A matriz de Regeneração Dérmica/Pele artificial Integra está registrado na ANVISA sob o número 10306840099, com o nome técnico de Membrana Regeneradora. É classificada como um substituto de pele complexo, formada por uma camada contendo colágeno bovino e glicosaminoglicanos, com camada externa de silicone.

[0021] A patente US2001003126A1 “METHOD OF MAKING CROSSLINKED POLYMER MATRICES IN TISSUE TREATMENT APPLICATIONS” descreve o método para preparação de matrizes poliméricas reticuladas para o tratamento de tecidos utilizando polímeros sintéticos. A patente difere da presente invenção por se tratar de um material reticulado sintético com aplicações limitadas a prevenção de

adesão cirúrgica, cobertura de superfícies de implantes sintéticos, matrizes para a liberação de fármacos e aplicações oftalmológicas.

[0022] A patente US2011064782A1 “METHODS AND COMPOSITIONS FOR TISSUE REGENERATION” descreve método e composições para a regeneração de tecido baseado em matrizes feitas de tecidos naturais livre de proteínas não fibrilares, elementos celulares e lipídios, contendo fibras de colágeno na sua arquitetura original e ultraestrutura do material de tecido original do qual é derivado. A patente difere da presente invenção pois trata-se de uma matriz extracelular decelularizada e não de uma estrutura porosa preparada em laboratório com biopolímeros reticulados.

[0023] A patente US10912822B2 “BIOMATERIAL DEVICES AND TOPICAL COMPOSITIONS FOR GUIDED TISSUE REGENERATION” descreve dispositivos e composições tópicas a base de biomateriais para a regeneração de tecidos guiada baseados em tecido colagenoso mutável obtido de equinodermos juntamente com quitosana para o tratamento de queimaduras, feridas, úlceras, outras lesões e enfermidades na pele. A patente difere da presente invenção por se tratar de preparações contendo colágeno fibrilar e quitosana que, quando formulados numa matriz porosa, não é reticulada.

[0024] A patente US6969523B1 “COLLAGEN/GLYCOSAMINOGLYCAN MATRIX STABLE TO STERILIZING BY ELECTRON BEAM RADIATION” descreve o processo de preparação de matriz estável de colágeno/glicosaminoglicanos esterilizado por irradiação com feixe de elétrons. A matriz liofilizada composta por colágeno e glicosaminoglicanos co-precipitados e recobertos com uma camada de silicone, reticulado com glutaraldeído e estabilizada em condições para receber a irradiação com feixe de elétrons onde a matriz ou “scaffold” mantém as características

para funcionar como um suporte estrutural para crescimento celular e tecidual. A presente invenção difere da patente citada por utilizar concentrações diferentes de colágeno e glicosaminoglicanos, não utilizar o glutaraldeído como agente reticulante e acomodar a matriz porosa sobre uma camada, filme ou folha de polissacarídeo.

[0025] A patente US2017342218A1 “PROCESS FOR PREPARING TISSUE REGENERATION MATRIX” descreve o processo para preparação de matriz de regeneração de tecidos composta por dispersão de colágeno e tropoelastina submetidas a secagem a frio para obtenção de matriz seca a frio e reticulação da matriz porosa. A presente invenção difere da patente citada por conter percentuais distintos de colágeno e não conter tropoelastina na sua composição; a reticulação da matriz porosa proposta na presente invenção não utiliza solução de aldeído, como descrita na reivindicação da patente US2017342218A1; a matriz porosa proposta pela presente invenção realiza a radioesterilização com fonte de ^{60}Co ; a matriz porosa descrita na presente invenção é apoiada sobre filme, membrana ou folha de polissacarídeo, diferentemente da patente US2017342218A1.

[0026] A patente US2016143726A1 “PROCESS FOR PREPARING TISSUE REGENERATION MATRIX” descreve o processo de preparação de matriz de regeneração de tecidos caracterizado pela obtenção de uma dispersão de colágeno, glicosaminoglicanos e tropoelastina, liofilização da dispersão para obtenção de uma matriz porosa, ligação cruzada da matriz porosa por um aldeído e direcionado para a regeneração de tecidos. A presente invenção difere da patente citada por não conter tropoelastina na composição, além de utilizar concentrações diferentes de colágeno e glicosaminoglicanos; a fonte de colágeno e glicosaminoglicanos na presente invenção difere da referida pela patente US2016143726A1; a

reticulação ou ligação cruzada (cross-linking) performada na presente invenção não utiliza reagente químico aldeído.

[0027] A patente US2011320009A1 “MATRIX FOR TISSUE REPAIR” consiste na preparação de implantes contendo uma camada porosa composta por colágeno com ligações cruzadas a um glicosaminoglicanos e a camada porosa é opcionalmente unida a um filme de colágeno. O implante é destinado ao reparo ou regeneração tecidual e composto por substâncias “auto-reticulantes”. A presente invenção difere da patente citada pela utilização de colágenos e glicosaminoglicanos reticulados com agente bifuncional. A matriz porosa biopolimérica estruturada tridimensionalmente descrita na presente invenção é apoiada e ficada sobre filme, membrana ou folha de polissacarídeo, diferentemente da descrita na patente US2011320009A1.

[0028] A presente invenção descreve a preparação de matriz de regeneração dérmica à base de biopolímeros naturais, que, quando arranjados na forma de esponja sobre uma membrana de polissacarídeo possa ser aplicado sobre feridas profundas, nas quais sejam necessárias a recomposição total do tecido. Esta matriz de regeneração tem potencial para ser utilizada em substituição a outras disponíveis no mercado, o que resultaria na economia de milhares de reais em tratamento.

Breve descrição dos desenhos

[0029] A Figura 1 apresenta o esquema de preparação da matriz porosa contendo colágeno e glicosaminoglicanos estruturada tridimensionalmente.

[0030] A Figura 2 ilustra a elaboração da matriz porosa contendo biopolímeros estruturados tridimensionalmente após secagem.

[0031] A Figura 3 ilustra a elaboração da matriz porosa contendo biopolímeros estruturados tridimensionalmente após secagem e reticulação.

[0032] A Figura 4 apresenta a imagem ultraestrutural da matriz porosa contendo biopolímeros estruturados tridimensionalmente.

[0033] A Figura 5 apresenta a imagem ultraestrutural da matriz porosa contendo biopolímeros estruturados tridimensionalmente mostrando poros regulares para colonização.

Descrição da invenção

[0034] Essa é O processo de preparação para obtenção de matrizes porosas compostas por biopolímeros estruturados tridimensionalmente são destinadas à regeneração de tecidos. As etapas de preparação compreendem a formulação de solução de biopolímeros de colágeno e glicosaminoglicanos contendo ácido acético; congelamento da solução entre -25°C a -40°C durante 24 h e posterior secagem a frio por 48; montagem da matriz porosa sobre filme ou folha de polissacarídeo com adesão promovida pela própria matriz ou pelo filme ou por solução de ácido acético; reticulação da matriz porosa com agente bifuncional.

[0035] A presente invenção está baseada no uso do colágeno e polissacarídeos do tipo glicosaminoglicanos como agentes de formação de matrizes porosas para o crescimento celular e regeneração de tecidos. A invenção tem como fundamento o papel desempenhado pelos biopolímeros e sua biocompatibilidade frente a desafios da medicina regenerativa, como a formação de novos tecidos perdidos. Os excelentes resultados do tratamento de feridas utilizando peles de animais também sugerem que a presença de colágenos e outros biopolímeros nestes materiais favorecem a regeneração e cicatrização de ferimentos.

[0036] O colágeno é uma proteína que compõe a matriz extracelular de tecidos animais e se apresenta na forma de fibras dando sustentação e resistência aos tecidos e particularmente à pele. Existem diversos tipos de colágeno formando diferentes formas fibrilares nos tecidos. Na pele dos animais, o colágeno tipo I é o predominante e passível de extração e aplicação.

[0037] O colágeno tipo I de qualquer fonte é adequado para o processo descrito na presente invenção, incluindo colágeno solúvel em ácido, colágeno solúvel após ação da pepsina e colágeno fibrilar insolúvel extraído de fontes naturais. As fontes naturais de colágeno incluem pele de peixe, pele de bovinos, suínos e ovinos, tendão bovino, outros mamíferos, aves, reptéis, anfíbios e invertebrados.

[0038] Os glicosaminoglicanos são heteropolissacarídeos amplamente presentes nos tecidos animais, fazendo parte da sustentação na matriz extracelular juntamente com o colágeno. São polímeros caracterizados pela presença de unidades dissacarídicas repetitivas onde um dos açúcares é um ácido urônico ou galactose e o outro é um aminoaçúcar como glucosamina ou galactosamina, N-acetilada ou não. Com exceção do ácido hialurônico, os glicosaminoglicanos são sulfatados em diversas posições e estas sulfatações, o tipo de ligação glicosídica intra e inter-dissacarídeos e os tipos de monossacarídeos dão diferentes propriedades ao polímero de glicosaminoglicano. Diversas formas de glicosaminoglicanos podem ser adequadas para o processo de preparação da presente invenção, incluindo ácido hialurônico, condroitim-4-sulfato, condroitim-6-sulfato, heparam sulfato, heparina, dermatam sulfato e queratam sulfato. Os glicosaminoglicanos desempenham um papel

importante nas respostas celulares como a formação de novos tecidos, migração, adesão e maturação.

[0039] Outros componentes são passíveis de serem incorporados na presente invenção como moléculas de massa molecular reduzida como peptídeos, oligossacarídeos e bioativos naturais. Esses componentes em diferentes proporções podem ser incorporados para a produção das matrizes de regeneração de tecidos.

[0040] As soluções contendo colágeno e glicosaminoglicanos são compostas de 0,5% a 6% de colágeno, 0,01% a 0,12% de glicosaminoglicanos. Os componentes que farão parte da solução de biopolímeros podem ser adicionados em qualquer ordem nas soluções contendo colágeno e nas soluções contendo colágeno e glicosaminoglicanos. Nas preparações rotineiras, o colágeno é dissolvido em solução de ácido acético a 0,5 mol/L e então congelado a -25°C por 24h. Nas preparações contendo colágeno e glicosaminoglicanos, a massa adequada de biopolímeros é dissolvida em solução de ácido acético 0,5 mol/L e então congelada a -25°C por 24h. Após esse período a solução contendo biopolímeros é seca a frio por um período de 48h para obtenção da matriz porosa estruturada tridimensionalmente. Após a secagem e remoção de aproximadamente 90% da água cristalizada por sublimação, há a formação da matriz aqui denominada matriz porosa de biopolímeros estruturados tridimensionalmente. O termo matriz é internacionalmente conhecido como estrutura porosa tridimensional ou “scaffold”, em português é entendido como andaime ou plataforma. Para efeito de entendimento, na presente invenção, o termo matriz refere-se a estrutura tridimensional porosa preparada de biopolímeros como colágenos e glicosaminoglicanos após preparação de solução, congelamento e

secagem a frio sob baixa pressão. Assim, as preparações contendo componentes naturais da matriz extracelular de animais como colágenos e glicosaminoglicanos quando estruturados artificialmente vão servir de suporte para a acomodação de novas células, formação de tecidos e sistemas de liberação controlada de materiais associados, como compósitos e oligômeros associados.

[0041] Após obtenção da matriz porosa após a secagem a frio, a mesma é apoiada sobre uma superfície de polissacarídeo na forma de filme, membrana ou folha, para evitar deformações. O material polissacarídico pode ser composto de polímero de glucopiranosídeos derivados de celulose, quitina, hemicelulose, xiloglucanos, arabinoglucanos e derivados homopolissacarídeos e heteropolissacarídeos contendo ácido glucurônico, ácido galacturônico, glucose, galactose, fucose, glucosamina, entre outros. A adesão da matriz porosa ao filme ou folha de polissacarídeo é realizada pela polimerização de solução de polissacarídeo, polipeptídeo ou adição de solução de ácido acético. O dispositivo matriz porosa + membrana de polissacarídeo é incubada a temperatura ambiente por 24h para acomodação e estabilização da adesão.

[0042] A reticulação covalente é realizada para aumentar a resistência mecânica, química e biológica da matriz porosa apoiada sobre a membrana de polissacarídeo. Dentre os agentes químicos bifuncionais adequados para aplicação em dispositivos destinados a utilização em medicina regenerativa está a reticulação com derivados de carbodiimida. Outras formas de reticulação incluem o tratamento com aldeídos e formação de pontes proteicas com a ação de enzimas. Uma abordagem prática, porém, potencialmente citotóxica é a utilização de aldeídos como o glutaraldeído, atuando pela formação de pontes covalente entre

grupamentos amino de diferentes biomoléculas. Concentrações de glutaraldeído a partir de 0,5% são potencialmente tóxicas e devem ser evitadas. A reticulação realizada com 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) em conjunto com N-hidroxisuccinamida (NHS) realiza a formação de pontes entre grupos de ácido carboxílicos com grupamentos amina. A proporção de EDC e NHS pode variar entre 1 a 50 mg/mL e 0,5 a 25 mg/mL, respectivamente. A presença de grupos amino e carboxil nas moléculas dos biopolímeros como nas cadeias laterais dos aminoácidos do colágeno e nos resíduos de ácido urônico e hexosamina nas moléculas de glicosaminoglicanos favoreceria a formação das pontes covalentes e consequente reticulação ou ligação cruzada (cross-linking) das macromoléculas.

[0043] A presente invenção pode ainda conter condensadas ou compósitos da matriz com moléculas bioativas na forma de oligômeros, componentes antimicrobianos, fatores de crescimento, anti-inflamatórios e outras moléculas biológicas como peptídeos e proteínas.

[0044] A esterilização após a preparação da matriz porosa, adesão da membrana de polissacarídeo e reticulação pode ser realizada por métodos químicos e radioesterilização. A irradiação é o método mais adequado no caso do método de preparação da presente invenção pois não deixa resíduos e pode ter dose e duração do agente esterilizante de forma altamente controlada, sem interferir na estrutura e resistência da matriz porosa estruturada e com base de apoio de polissacarídeo.

[0045] A matriz porosa de biopolímeros estruturada tridimensionalmente apresenta dimensão média de poros entre 100 e 200 μm e um volume de poros entre 80% e 95%.

[0046] Estudos preliminares demonstram que a matriz porosa de biopolímeros da presente invenção é eficaz em promover a regeneração dérmica em ratos submetidos a remoção da pele em sua espessura total. Após remoção cirúrgica de um retalho circular de pele de 2 cm de diâmetro, a matriz porosa preparada com colágeno e matriz porosa preparada com colágeno e glicosaminoglicanos foi aplicada no leito da lesão e suturada na pele adjacente. Após vinte e um dias, os animais foram sacrificados e o retalho de pele foi removido e preparado para análise histológica. A análise histopatológica mostrou que a matriz porosa com biopolímeros estruturados tridimensionalmente foi capaz de promover a regeneração dérmica. A neoderme formada apresenta abundância de fibras colágenas e vascularização e ausência de tecido de granulação, sugerindo que a regeneração dérmica está em desenvolvimento.

[0047] A matriz porosa de biopolímeros pode representar uma nova alternativa para reparação e regeneração de tecidos aplicada em cirurgias reconstrutivas para tratamento de perdas de tecido conjuntivo e de revestimento. Particularmente em lesões decorrentes de queimaduras de III grau onde há perda substancial de tecido dérmico, as matrizes porosas podem ser aplicadas para preenchimento de tecido após excisões de tumores ou para resultados cosméticos. de patentes possa entender o que você inventou e como sua invenção funciona.

Exemplos de concretizações da invenção

[0048] Os exemplos a seguir são baseados na preparação da matriz porosa composta por biopolímeros naturais estruturados tridimensionalmente para a regeneração de tecidos. As matrizes porosas seguem o percentual estabelecido a partir das soluções de preparação contendo colágeno 0,5% a 6% e glicosaminoglicanos 0,01% a 0,12% dissolvidos em solução de

ácido acético e secado a frio para obtenção da matriz porosa, montada sobre camada de polissacarídeo e reticulada com agente químico bifuncional e então esterilizada por radiação ionizante. Estes exemplos sugerem o procedimento para preparação da matriz porosa composta de biopolímeros estruturados tridimensionalmente mas não limitam o processo de obtenção.

[0049] Exemplo 1: Preparação da solução de colágeno e glicosaminoglicanos

[0050] A solução de colágeno e glicosaminoglicanos foi produzida dissolvendo colágeno solúvel em ácido (4%, m/v) e condroitim 6-sulfato (0,01%, m/v) extraídos da pele de tilápia do Nilo. Os biopolímeros foram dissolvidos em solução de ácido acético glacial 0,5 mol/L. Para preparação das soluções foi utilizada água ultra-pura.

[0051] O colágeno solúvel em ácido de pele de tilápia (4.0 g) foi suspenso em 50 mL de ácido acético glacial 0,5 mol/L e submetido a agitação magnética (100 rpm) por 24 h a 4°C. Após esse período, foi adicionado 10 mL de solução de condroitim 6-sulfato de pele de tilápia a 1,0 mg/mL dissolvido em ácido acético 0,5 mol/L. O pH da solução contendo biopolímeros foi ajustado para 5,0 com solução de NaOH 0,5 mol/L e o volume da solução foi ajustado para 100 mL com ácido acético 0,5 mol/L pH 5,0. A solução contendo biopolímeros foi homogeneizada sob agitação magnética (500 rpm) por 20 minutos a 25°C.

[0052] A solução foi centrifugada a 5.000 g em temperatura ambiente por 10 min para remoção de bolhas de ar. A solução contendo colágeno e condroitim 6-sulfato foi colocada em moldes circulares de 0,625 cm² e congelado a -26°C por 24 h.

[0053] Exemplo 2: Secagem a frio

[0054] A solução contendo biopolímeros foi seca a frio por 48 h em liofilizador Liotop modelo L101 (Liobras, São Carlos, Brasil) a -45°C e pressão constante de 120 μm de Hg. Enquanto a água cristalizada da amostra é lentamente sublimada durante o processo há formação da matriz porosa. A água na forma de gelo passa do estado sólido para o gasoso e os biopolímeros formam o arcabouço da matriz por interações eletrostáticas e pontes de hidrogênio. Após esse período, as matrizes secas foram removidas do equipamento e acondicionadas a 4°C até a sua utilização.

[0055] Exemplo 3: Montagem da matriz porosa sobre filme de polissacarídeo

[0056] Solução de quitosana: quitosana solúvel em ácido foi preparada através do processo descrito por Cahú e colaboradores em 2012. A solução de quitosana foi preparada dissolvendo 1,0 g do polissacarídeo em 20 mL de ácido acético 0,5 mol/L, sob agitação magnética por 24h. O biopolímero da cana de açúcar Polycell (Polisa, Carpina, Brasil) gentilmente doado pelo professor Dr. José Lamartine, consiste numa membrana de biopolímero de celulose produzido a partir da fermentação do melaço de cana pelo microrganismo *Zooglea* sp. (Melo, 2003). O filme/membrana Polycell (0,635 cm^2) foi recoberto com 0,5 mL de solução de quitosana em ácido acético glacial e então colocado sob a matriz porosa de biopolímeros e incubado a temperatura ambiente por 24h para a completa aderência da matriz ao suporte de polissacarídeo.

[0057] Exemplo 4: Reticulação da matriz porosa de biopolímeros

[0058] O processo de reticulação da matriz porosa foi realizado por reação com carbodiimida/N-hidroxysuccinamida (EDC/NHS) na proporção de 2:1 em solução de etanol tamponado.

[0059] As matrizes porosas foram incubadas em tampão MES (ácido 2-(N-morfolino)etanosulfônico) 0,1 mol/L contendo etanol a 50% (v/v) e EDC 25 mg/mL e NHS a 12,5 mg/mL em temperatura ambiente. Após 2h as matrizes foram lavadas com solução tampão fosfato salina (PBS) para remoção do excesso de EDC/NHS por 10 minutos e posteriormente acomodadas em sacos plásticos de polietileno selados contendo PBS e estes foram submetidos a radioesterilização para garantir a inocuidade do material.

[0060] Exemplo 5: Radioesterilização

[0061] A esterilização das matrizes porosas de biopolímeros estruturadas tridimensionalmente foi realizada por irradiação gama com fonte de ^{60}Co , na faixa de 10 a 30 kGy.

[0062] As matrizes foram armazenadas em bolsas de polietileno contendo tampão PBS e empacotadas utilizando prensa térmica para selagem, seguido pelo empacotamento em uma segunda embalagem de polietileno. As preparações receberam radiação gama por exposição a uma fonte de ^{60}Co com dosagem variando entre 10 a 30 kGy.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[0063] Albu, M. G., Titorencu, I., & Ghica, M. V. (2011). Collagen-based drug delivery systems for tissue engineering (Vol. 17, pp. 333-358). chapter.

[0064] Alves, A. P. N. N., Verde, M. E. Q. L., Ferreira Júnior, A. E. C., Silva, P. G. D. B., Feitosa, V. P., Lima Júnior, E. M., Miranda, M. J. B & Moraes Filho, M. O. D. (2015). Avaliação microscópica, estudo histoquímico e análise de propriedades tensiométricas da pele de tilápia do Nilo. Revista Brasileira de Queimaduras, Limeira, v. 14, n. 3, p. 203-210

- [0065] Assis, C. R. D., Amaral, I. P. G., Castro, P. F., Carvalho Jr, L. B., & Bezerra, R. S. (2007). Effect of dichlorvos on the acetylcholinesterase from tambaqui (*Colossoma macropomum*) brain. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 26(7), 1451-1453.
- [0066] Babu, C. M., Chakrabarti, R., & Sambasivarao, K. R. S. (2008). Enzymatic isolation of carotenoid-protein complex from shrimp head waste and its use as a source of carotenoids. *LWT-Food Science and Technology*, 41(2), 227-235.
- [0067] Batista, B. D. F. C., & Cordovil, P. B. (2012). Perfil epidemiológico de pacientes que sofreram queimaduras no Brasil: revisão de literatura. *Revista Brasileira de Queimaduras*, 11(4), 246-250.
- [0068] Bezerra, R. S., Lins, E. J., Alencar, R. B., Paiva, P. M., Chaves, M. E., Coelho, L. C., & Carvalho Jr, L. B. (2005). Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Process Biochemistry*, 40(5), 1829-1834.
- [0069] Boateng, J., & Catanzano, O. (2015). Advanced therapeutic dressings for effective wound healing—a review. *Journal of pharmaceutical sciences*, 104(11), 3653-3680.
- [0070] Bolgiani, A., Lima Júnior, E. M., & Serra, M. C. V. F. (2013). Quemaduras. *Conductas clínicas y quirúrgicas*. Atheneu. Sao Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte, Brazil.
- [0071] Brito, A. S., Arimatéia, D. S., Souza, L. R., Lima, M. A., Santos, V. O., Medeiros, V. P., Ferreira, P. A.; Silva, R. A.; Ferreira, C. V.; Justo, G. Z.; Leite, E. L.; Andrade, G. P. V.; Oliveira, F. W.; Nader, H. B. & Chavante, S. F. (2008). Anti-inflammatory properties of a heparin-like glycosaminoglycan

with reduced anti-coagulant activity isolated from a marine shrimp. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 16(21), 9588-9595.

[0072] Cahú, T. B., Santos, S. D., Mendes, A., Córdula, C. R., Chavante, S. F., Carvalho Jr, L. B., Nader, H. B. & Bezerra, R. S. (2012). Recovery of protein, chitin, carotenoids and glycosaminoglycans from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste. *Process Biochemistry*, 47(4), 570-577.

[0073] Cahú, T. B., Silva, R. A., Silva, R. P., Silva, M. M., Arruda, I. R., Silva, J. F., Costa, R. M. P. B., Santos, S. D., Nader, H. B & Bezerra, R. S. (2017). Evaluation of chitosan-based films containing gelatin, chondroitin 4-sulfate and ZnO for wound healing. *Applied biochemistry and biotechnology*, 183(3), 765-777.

[0074] Chattopadhyay, S., & Raines, R. T. (2014). Collagen-based biomaterials for wound healing. *Biopolymers*, 101(8), 821-833.

[0075] Costa, G. O. P., Silva, J. A. & Santos, A. G. (2015) Perfil clínico e epidemiológico das queimaduras: evidências para o cuidado de enfermagem. *Ciência e Saúde*. 8(3):146-55.

[0076] Cruz, B. F., Cordovil, P. B. & Batista, K. N. (2012) Perfil epidemiológico de pacientes que sofreram queimaduras no Brasil: revisão da literatura. *Rev Bras Queimaduras*. 11(4):246-50

[0077] Dhivya, S., Padma, V. V., & Santhini, E. (2015). Wound dressings—a review. *BioMedicine*, 5(4), 1-5.

[0078] FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Roma. 2016.

[0079] Farina Jr, J. A. (2018) Novas tecnologias no tratamento de queimaduras. *Rev Plastiko's*, 215:47-9.

- [0080] Fonder, M. A., Lazarus, G. S., Cowan, D. A., Aronson-Cook, B., Kohli, A. R., & Mamelak, A. J. (2008). Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(2), 185-206.
- [0081] Friess, W. (1998). Collagen–biomaterial for drug delivery. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 45(2), 113-136.
- [0082] Gaspar-Pintilieșcu, A., Stanciuc, A. M., & Craciunescu, O. (2019). Natural composite dressings based on collagen, gelatin and plant bioactive compounds for wound healing: A review. *International journal of biological macromolecules*, 138, 854-865.
- [0083] Gildberg, A., & Stenberg, E. (2001). A new process for advanced utilisation of shrimp waste. *Process Biochemistry*, 36(8-9), 809-812.
- [0084] Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314-321.
- [0085] Hwang, J. H., Mizuta, S., Yokoyama, Y., & Yoshinaka, R. (2007). Purification and characterization of molecular species of collagen in the skin of skate (*Raja kenoi*). *Food Chemistry*, 100(3), 921-925.
- [0086] Katalinich, M. (2001) "Characterization of Chitosan Films for Cell Culture Applications". *Electronic Theses and Dissertations*. 245. <https://digitalcommons.library.umaine.edu/etd/245>
- [0087] Kumar, M. N. R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and functional polymers*, 46(1), 1-27.
- [0088] Lima, L. L., Taketa, T. B., Beppu, M. M., de Oliveira Sousa, I. M., Foglio, M. A., & Moraes, Â. M. (2019). Coated electrospun bioactive wound

dressings: Mechanical properties and ability to control lesion microenvironment. *Materials Science and Engineering: C*, 100, 493-504.

[0089] Lima Júnior, E. M. (2017). Tecnologias inovadoras: uso da pele da tilápia do Nilo no tratamento de queimaduras e feridas. *Rev Bras Queimaduras*, 16(1), 1-2.

[0090] Melo, F. D. A. D. (2003). Contribuição ao estudo cinético da produção de polissacarídeos extracelulares por *Zoogloea* sp em melaço de cana-de-açúcar (Master's thesis, Universidade Federal de Pernambuco).

[0091] Moore, K., McCallion, R., Searle, R. J., Stacey, M. C., & Harding, K. G. (2006). Prediction and monitoring the therapeutic response of chronic dermal wounds. *International wound journal*, 3(2), 89-98.

[0092] Moreira, S. S., Macedo, A. C., Nunes, B. B., Brasileiro, F. F., Guarizzo, J., Gozzano, R. & Barros, R. (2013) Implantação de nova tecnologia para otimização do atendimento em ambulatório de queimados, sem adição de custos. *Rev Bras Queimaduras*. 12(2):87-102.

[0093] Muzzarelli, R. A. (2009). Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. *Carbohydrate polymers*, 76(2), 167-182.

[0094] Okur, N. Ü., Hökenek, N., Okur, M. E., Ayla, Ş., Yoltaş, A., Siafaka, P. I., & Cevher, E. (2019). An alternative approach to wound healing field; new composite films from natural polymers for mupirocin dermal delivery. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(5), 738-752.

[0095] Percival, N. J. (2002). Classification of wounds and their management. *Surgery (Oxford)*, 20(5), 114-117.

[0096] Piccolo, N. (2018) Tratamento de queimaduras no mundo e realidade brasileira. *Rev Plastiko's*. 215:44-6

- [0097] Rao, S. B., & Sharma, C. P. (1997). Use of chitosan as a biomaterial: studies on its safety and hemostatic potential. *Journal of Biomedical Materials Research*, 34(1), 21-28.
- [0098] Sachindra, N. M., & Mahendrakar, N. S. (2005). Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils. *Bioresource Technology*, 96(10), 1195-1200.
- [0099] Sachindra, N. M., Bhaskar, N., & Mahendrakar, N. S. (2006). Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents. *Waste Management*, 26(10), 1092-1098.
- [00100] Sahithi, B., Ansari, S. K., Hameeda, S. K., Sahithya, G. M. D. P., Prasad, D. M., & Lakshmi, Y. (2013). A review on collagen based drug delivery systems. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(3), 461.
- [00101] Santos, S. D. (2006). Extração de pigmentos carotenóides de resíduos do processamento do camarão branco *Litopenaeus vannamei* utilizando autólise proteolítica (Master's thesis, Universidade Federal de Pernambuco).
- [00102] Shang, Y., Ding, F., Liu, J., Xiao, L., Deng, H., Du, Y., & Shi, X. (2018). Dual-drug release from chitin-based core-shell microspheres fabricated by coaxial electrospray. *Advances in Polymer Technology*, 37(5), 1366-1373.
- [00103] Tavares, W. S. & Silva, R. S. (2015). Curativos utilizados no tratamento de queimaduras: uma revisão integrativa. *Rev Bras Queimaduras*, 14(4), 300-6.

- [00104] Thomas, S., & Uzun, M. (2019). Testing dressings and wound management materials. In *Advanced textiles for wound care* (pp. 23-54). Woodhead Publishing.
- [00105] Yannas, I. V., & Burke, J. F. (1980). Design of an artificial skin. I. Basic design principles. *Journal of biomedical materials research*, 14(1), 65-81.
- [00106] Yarboro, S. R., Baum, E. J., & Dahners, L. E. (2007). Locally administered antibiotics for prophylaxis against surgical wound infection: an in vivo study. *JBJS*, 89(5), 929-933.
- [00107] Zhang, F., Wang, A., Li, Z., He, S., & Shao, L. (2011). Preparation and characterisation of collagen from freshwater fish scales. *Food and Nutrition Sciences*, 2011.
- [00108] Zhang, L., Yang, G., Johnson, B. N., & Jia, X. (2019). Three-dimensional (3D) printed scaffold and material selection for bone repair. *Acta biomaterialia*, 84, 16-33.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para preparação de matriz de regeneração dérmica caracterizado por conter biopolímeros naturais obtida a partir de solução seca a frio; a solução é composta de colágeno e glicosaminoglicanos; congelamento e secagem a frio para obtenção de uma matriz porosa; reticulação com agente bifuncional; acomodação matriz porosa sobre filme ou folha de polissacarídeo.
2. O processo de preparação da matriz porosa no Item 1 é condicionado a obtenção de solução caracterizado por conter 0,5% a 6% de colágeno e de 0,01% a 0,12% de glicosaminoglicano.
3. O processo relatado no Item 1 caracterizado por secagem a frio sob baixa pressão onde a solução de biopolímeros resulta numa matriz porosa que é montada sobre membrana, filme ou folha de polissacarídeo.
4. O processo relatado no Item 1 caracterizado por ser submetido etapa de reticulação com agente bifuncional, submetendo a matriz porosa a modificação química em solução alcoólica e lavagem com solução tampão.
5. O processo descrito no Item 1 caracterizado por produzir matriz porosa composta por polissacarídeos estruturados tridimensionalmente destinada a regeneração de tecidos.

DESENHOS

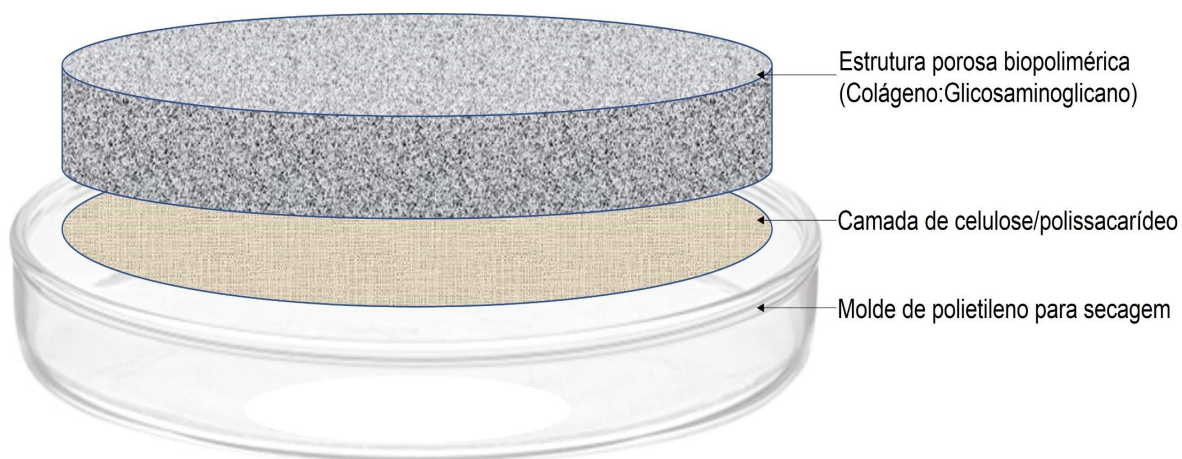


Figura 1

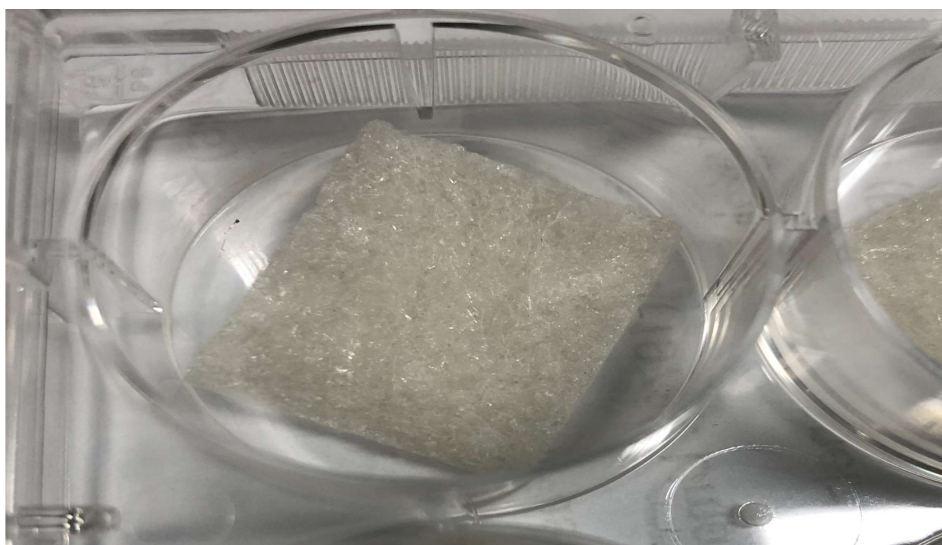


Figura 2

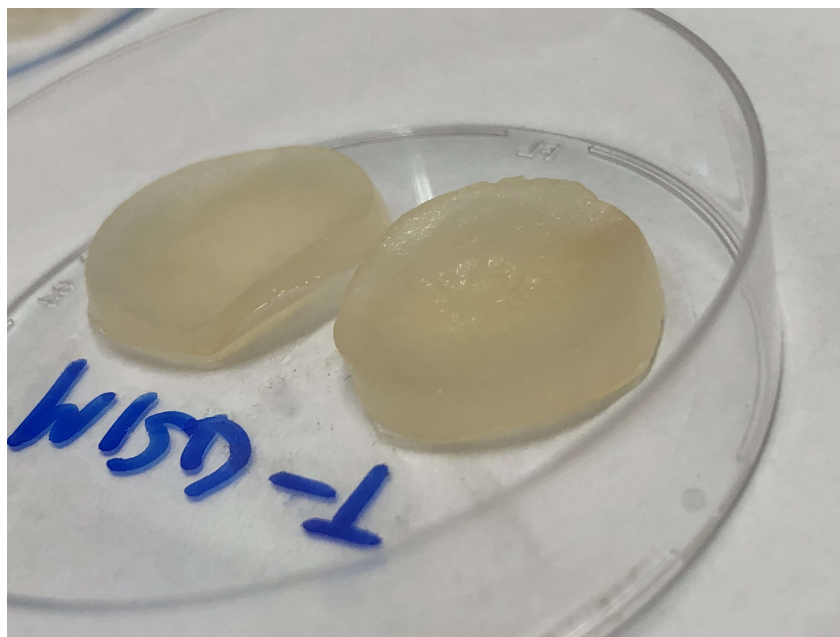


Figura 3

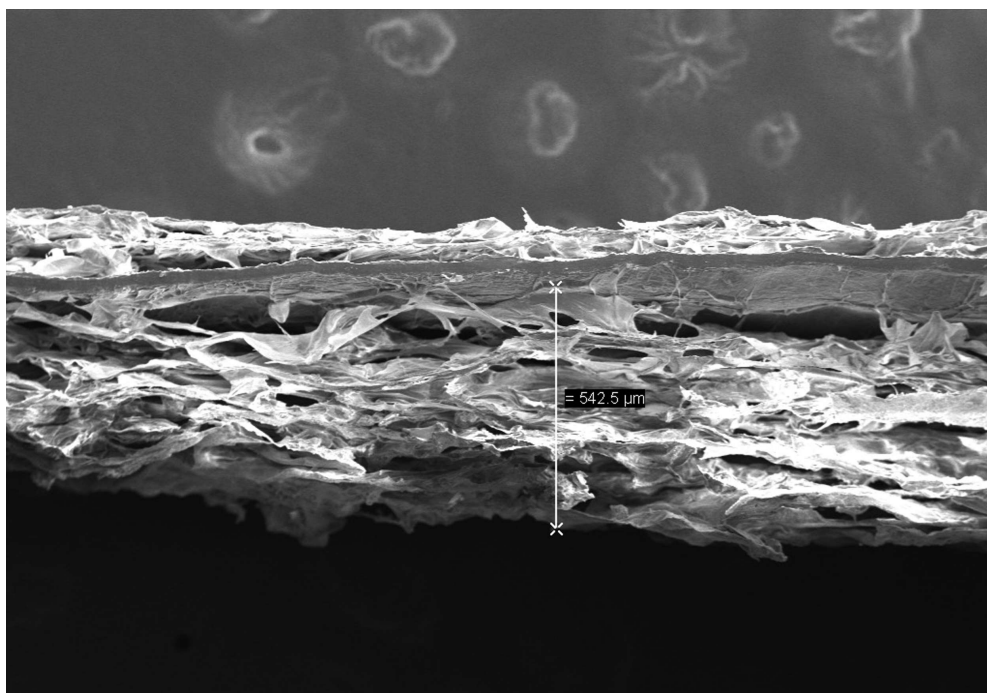


Figura 4

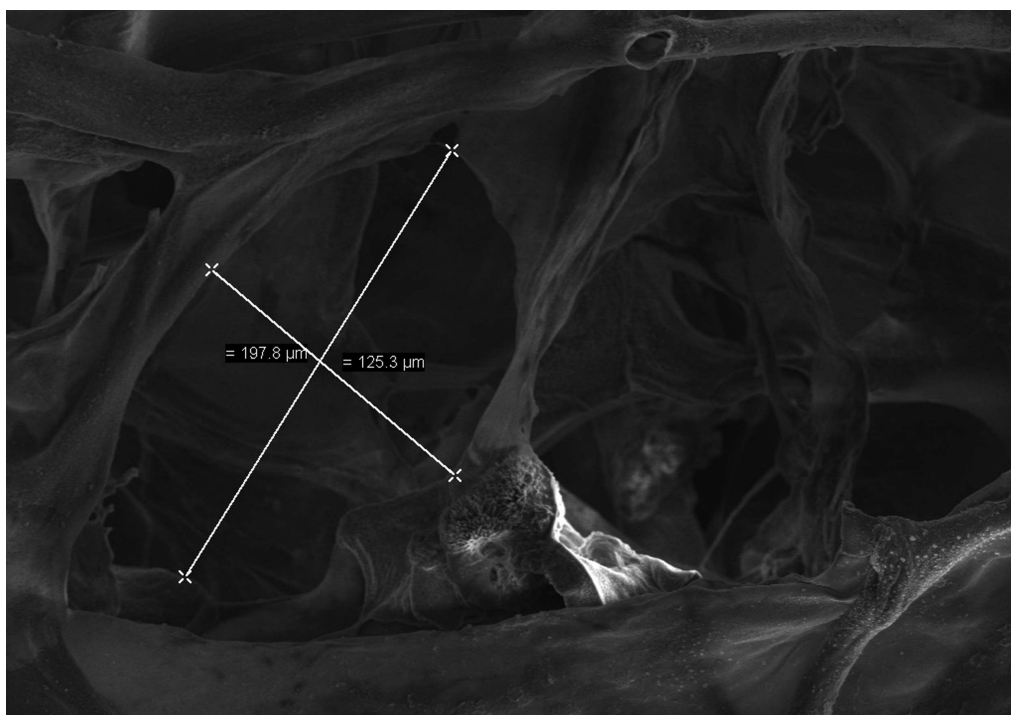


Figura 5

RESUMO

Processo de preparação de biopolímeros estruturados tridimensionalmente para a regeneração de tecidos

A invenção tem por objetivo a preparação de um suporte tridimensional feito de biopolímeros naturais para a regeneração de tecidos. O processo consiste na 1) obtenção de soluções contendo compósitos de biopolímeros, 2) secagem a frio para obtenção de uma matriz porosa contendo biomateriais, 3) montagem da matriz porosa sobre um filme de polissacarídeo; 4) reticulação da matriz porosa e 5) esterilização. A matriz porosa tem por finalidade a regeneração de tecidos.