

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 409 065**

51 Int. Cl.:

**C08B 37/08** (2006.01)

**A61L 27/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.11.2006 E 06832873 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2013 EP 1961772**

54 Título: **Ácido hialurónico cationizado**

30 Prioridad:

**01.12.2005 JP 2005347501**

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

**24.06.2013**

73 Titular/es:

**SHISEIDO COMPANY, LIMITED (100.0%)  
5-5, GINZA 7-CHOME  
CHUO-KU, TOKYO 104-0061, JP**

72 Inventor/es:

**MORI, YUICHIRO;  
MATSUMOTO, TETSUNORI y  
YOKOKAWA, YOSHIHIRO**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 409 065 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**

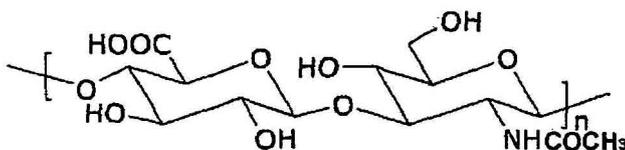
Ácido hialurónico cationizado

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a un ácido hialurónico cationizado en el que se introduce un grupo catiónico en ácido hialurónico.

**Antecedentes de la invención**

El ácido hialurónico es un polímero en el que una N-acetil-D-glucosamina y un ácido D-glucurónico están unidos juntos para formar una unidad, y varias unidades están unidas repetidamente como se representa por la siguiente fórmula (I).



(I)

10 El ácido hialurónico tiene una propiedad polianiónica debido a la presencia de grupos carboxilo derivados de ácido glucurónico. Se sabe que, usando dicha propiedad polianiónica, puede formarse un gel de complejo polión insoluble en agua combinando ácido hialurónico con una sustancia policatiónica en agua.

15 En la bibliografía de patente 1, por ejemplo, se desvela una cápsula de gel de ácido hialurónico que encierra un fármaco, en que se forma una película de complejo polión con una sustancia catiónica sobre la superficie del gel de ácido hialurónico gel.

Además, en la bibliografía de patente 2, una preparación de liberación sostenida usando un complejo polión de ácido hialurónico y un derivado de poli(ácido acrílico) catiónico como vehículo farmacéutico.

20 Además, aplicaciones para materiales médicos tales como adhesivos médicos, agentes de fijación y agentes de prevención de adhesión se ha informado en las bibliografías de patente 3 a 5.

El ácido hialurónico es excelente en seguridad biológica y biocompatibilidad porque está ampliamente distribuido en tejidos conectivos de un cuerpo vivo, incluyendo el ser humano. Se desea que una sustancia catiónica asociada con ácido hialurónico en la formación de un complejo polión también sea excelente en seguridad biológica y biocompatibilidad.

25 La quitosana, que es una quitina desacetilada, y la celulosa aminada se conocen como polímeros catiónicos derivados de material del cuerpo vivo. Sin embargo, se ha deseado un polímero catiónico mucho más cercano al componente del cuerpo humano.

Bibliografía de patente 1: publicación de patente no examinada japonesa H06-254381

Bibliografía de patente 2: publicación de patente no examinada japonesa H07-33682

30 Bibliografía de patente 3: publicación de patente no examinada japonesa 2000-5296

Bibliografía de patente 4: publicación de patente no examinada japonesa 2000-116765

Bibliografía de patente 5: publicación de patente no examinada japonesa 2002-638

**Divulgación de la invención****Problema a resolver por la invención**

35 La presente invención se hizo en vista del problema mencionado anteriormente de la técnica previa, y un objeto de la misma es proporcionar un polímero catiónico que sea mucho más cercano al componente del cuerpo humano, y capaz de formar un complejo polión junto con un material biocompatible aniónico, tal como ácido hialurónico.

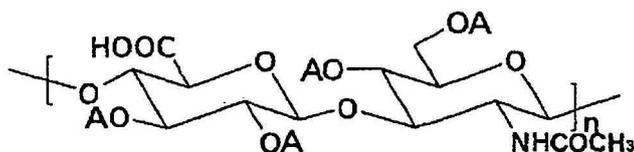
**Medio para resolver el problema**

40 Para lograr el objeto mencionado anteriormente, los presentes inventores intentaron introducir un grupo catiónico de amonio cuaternario en ácido hialurónico y consiguieron obtener un ácido hialurónico. Posteriormente, los presentes

inventores descubrieron que el ácido hialurónico cationizado puede formar un gel de complejo polión junto con ácido hialurónico en presencia de agua, que provocó la finalización de la presente invención.

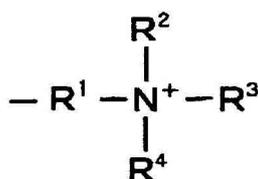
Es decir, un ácido hialurónico cationizado de acuerdo con la presente invención es un ácido hialurónico en el que al menos una parte de los átomos de hidrógeno hidroxílico del ácido hialurónico está remplazada con un grupo que tiene un grupo catiónico de amonio cuaternario.

El ácido hialurónico cationizado de la presente invención está representado preferiblemente por la siguiente fórmula (1):



(1)

en la que A representa un átomo de hidrógeno o un sustituyente representado por la siguiente fórmula (2):

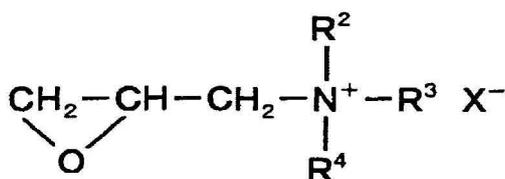


(2)

en la que R<sup>1</sup> representa un grupo alquileo que tiene de 3 a 5 átomos de carbono que pueden tener un grupo hidroxilo, y cada R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> representa un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono; y

un grado promedio de sustitución con el sustituyente es 0,1 o más por una unidad de ácido hialurónico.

Además, el ácido hialurónico cationizado de la presente invención se obtiene preferiblemente haciendo reacción el ácido hialurónico con un agente cationizante representado por la siguiente fórmula (3):



(3)

en la que cada R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> representa un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono, y X representa un átomo de halógeno.

El complejo polión de acuerdo con la presente invención se forma con cualquier ácido hialurónico cationizado mencionado anteriormente y un material biocompatible aniónico. Los materiales biocompatibles aniónicos preferibles incluyen ácido hialurónico.

El ácido hialurónico cationizado de la presente invención puede formar un complejo polión con un material aniónico tal como ácido hialurónico en presencia de agua y puede esperarse su utilización para diversos tipos de aplicaciones en que se usa convencionalmente un hidrogel. Por ejemplo, el complejo polión del ácido hialurónico cationizado con ácido hialurónico es un hidrogel insoluble en agua y consta principalmente de ácido hialurónico que existe en un cuerpo humano. Por tanto, tiene excelente seguridad biológica y biocompatibilidad y se prefiere en los campos tales como farmacéutica, asistencia médica, higiene, alimentación y cosmética.

**Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 es un espectro de  $^1\text{H}$  RMN de un ácido hialurónico cationizado (Ejemplo de preparación 1) de acuerdo con la presente invención.

**5 Mejor modo de realizar la invención**

Un ácido hialurónico cationizado de la presente invención es un ácido hialurónico en el que al menos una parte de los átomos de hidrógeno hidroxílico del ácido hialurónico está remplazada con un grupo que tiene un grupo catiónico de amonio cuaternario.

10 Ejemplos preferibles para el ácido hialurónico cationizado de la presente invención incluyen un ácido hialurónico cationizado que tiene la estructura representada por la fórmula mencionada anteriormente (1).

En la fórmula (1), A representa un átomo de hidrógeno o un sustituyente representado por la fórmula mencionada anteriormente (2). Un grado promedio de sustitución con el sustituyente representado por la fórmula (2) es preferiblemente 0,1 o más por una unidad de ácido hialurónico, y más preferiblemente 1 o más por una unidad.

15 En la fórmula (2),  $\text{R}^1$  representa un grupo alqueno que tiene de 3 a 5 átomos de carbono y puede tener un grupo hidroxilo. Ejemplos preferibles para  $\text{R}^1$  incluyen  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ .

Cada  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^4$  representa un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono.

"n" es un número entero positivo que representa un grado de polimerización. Aunque el peso molecular del ácido hialurónico usado no está particularmente limitado, es normalmente de aproximadamente 100.000 a aproximadamente 3.000.000.

20 El ácido hialurónico cationizado de la presente invención puede sintetizarse haciendo reaccionar ácido hialurónico con un agente cationizante.

Un procedimiento para producir el ácido hialurónico usado como material de partida no está particularmente limitado. El ácido hialurónico se fabrica industrialmente por extracción de tejido vivo, tal como cresta de gallo o por cultivo de microorganismos. Además, está disponible en el mercado un hialuronato, tal como sal sódica. En la presente invención, puede usarse ácido hialurónico o una sal del mismo.

25 El agente cationizante no está particularmente limitado siempre que sea un compuesto que tenga un grupo catiónico de amonio cuaternario y un grupo reactivo para un grupo hidroxilo de ácido hialurónico. La cantidad del agente cationizante usada puede establecerse apropiadamente dependiendo de un grado deseado de sustitución: es normalmente 0,1 veces o más (proporción molar) por una unidad de ácido hialurónico, y más preferiblemente 1 vez o más (proporción molar).

Ejemplos preferidos de agentes cationizantes incluyen haluro de glicidiltrialquilamonio representado en la fórmula mencionada anteriormente (3).

35 En la fórmula (3), cada  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^4$  representa un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono. X representa un átomo de halógeno, incluyendo Cl, Br, I, y similares, preferiblemente Cl. Ejemplos específicos incluyen cloruro de glicidiltrimetilamonio, cloruro de glicidiltrietilamonio y cloruro de glicidiltripropilamonio.

Cuando se usa haluro de glicidiltrialquilamonio como agente cationizante, la reacción se realiza preferiblemente en presencia de álcali. Ejemplos de álcalis incluyen hidróxidos de metales alcalinos tales como hidróxido sódico e hidróxido potásico; hidróxidos de metales alcalino-térreos tales como hidróxido de calcio e hidróxido de magnesio; y aminas orgánicas tales como etilendiamina, trietilamina y trimetilamina: preferiblemente hidróxido sódico.

40 En general, se usa preferiblemente agua como disolvente. Pueden usarse, sin embargo, otros disolventes siempre que la reacción no se interrumpa particularmente.

45 La temperatura de reacción se establece apropiadamente dependiendo de los materiales de partida o un grado deseado de sustitución: es normalmente de 20 a 50°C, preferiblemente de 25 a 40°C. Como la hidrólisis del ácido hialurónico puede progresar hasta reducir el peso molecular del mismo a temperatura elevada, se requiere especial atención cuando no se desea la reducción del peso molecular.

Después de completarse la reacción, se precipita un ácido hialurónico cationizado añadiendo un mal disolvente para el ácido hialurónico cationizado, tal como alcohol o acetona, a la mezcla de reacción. Si es necesario, el precipitado se lava y se seca para obtener el ácido hialurónico cationizado de la presente invención.

50 Un ácido hialurónico cationizado tiene una propiedad policatiónica, mientras que el ácido hialurónico habitual tiene una propiedad polianiónica. Por tanto, cuando coexisten un ácido hialurónico cationizado y ácido hialurónico en

agua, se forma un complejo polión y precipita en forma de un gel insoluble en agua por interacción electrostática entre ellos. El gel puede formarse en diversos tipos de formas tales como gránulo, película fina y bloque, dependiendo del propósito. El gel puede usarse en un estado de hidrogel como tal o en estado seco. La proporción de mezcla de un ácido hialurónico cationizado y ácido hialurónico no está particularmente limitada siempre que esté dentro del intervalo para formar un complejo polión, y puede decidirse apropiadamente dependiendo del propósito.

Además, puede encerrarse un fármaco dentro del gel cuando coexisten un ácido hialurónico cationizado y ácido hialurónico en agua, en que el fármaco se disuelve o dispersa. Como alternativa, puede encerrarse un fármaco dentro del gel por un procedimiento en que una solución acuosa de ácido hialurónico que contiene un fármaco soluble en agua disuelto en la misma se añade gota a gota en una solución acuosa de ácido hialurónico cationizado, o un procedimiento en que una emulsión, en que la fase oleosa que comprende un fármaco soluble en aceite se emulsiona y dispersa en una solución acuosa de ácido hialurónico, se añade gota a gota en una solución acuosa de ácido hialurónico cationizado, de acuerdo con procedimientos descritos en la bibliografía de patente 1.

Como el complejo polión de la presente invención consta principalmente de ácido hialurónico, tiene excelente seguridad biológica y biocompatibilidad y puede utilizarse tal como vehículo farmacéutico. Además, también es posible utilizar el complejo polión de la presente invención como materiales para medicina, higiene, alimentación y cosmética. Dependiendo del propósito o aplicación, también es posible usar el ácido hialurónico cationizado de la presente invención para formar un complejo polión con otras sustancias aniónicas. Las otras sustancias aniónicas no están limitadas siempre que tengan varios grupos aniónicos intramoleculares, tales como grupo carboxilo y grupo sulfato, y formen un complejo polión con el ácido hialurónico cationizado en presencia de agua.

Ejemplos de sustancias aniónicas incluyen polisacáridos naturales aniónicos tales como ácido alginico, sulfato de condroitina, sulfato de dextrano y pectina; polisacáridos sintéticos aniónicos tales como carboximetilcelulosa, carboximetildextrano, carboximetilalmidón, carboximetilquitosana, celulosa sulfatada y dextrano sulfatado; polímeros de aminoácidos tales como poli(ácido glutámico), poli(ácido aspártico) y copolímero de ácido glutámico-aspártico; polinucleótidos; proteínas ácidas tales como albúmina sérica, pepsina, ureasa y fetuína; polímeros aniónicos tales como poli(ácido acrílico) y polímero de carboxivinilo; y derivados y sales de los mismos. Además, también se incluyen polímeros biocompatibles aniónicos que tienen un grupo fosforilcolina.

La presente invención se explicará a continuación en detalle a modo de realizaciones, pero no se limita a las mismas.

### Ejemplos

#### 30 Ejemplo de preparación 1: Producción de ácido hialurónico cationizado

Se mezclaron 10,4 ml (0,078 mol) de cloruro de glicidiltrimetilamonio con 11,25 ml de agua, y después, se añadieron 5 g (0,013 mol en forma de unidad disacárida) de ácido hialurónico (BIO HYARO 9<sup>TM</sup>: fabricado por Shiseido Company, Ltd.) y 1,25 ml de solución acuosa de hidróxido sódico 2 M y se disolvieron en el mismo.

La solución de mezcla se hizo reaccionar durante tres días a temperatura ambiente. Después de completarse la reacción, se precipitó un producto de reacción con metanol añadido a la misma, y después se lavó suficientemente con acetona, para dar 4,2 g de polvo blanco. El polvo obtenido se sometió a CEM, para confirmar que se habían eliminado los compuestos de bajo peso molecular (reactivos sin reaccionar).

Además, en <sup>1</sup>H RMN (véase la Fig. 1), se detectó una señal obtenida del protón de trimetilamonio, de este modo se confirmó que se introdujo el grupo 2-hidroxi-3-trimetilamonio-propilo en el mismo.

El grado promedio de sustitución calculado a partir del valor de la integral en <sup>1</sup>H RMN fue de aproximadamente 1,4 por una unidad de ácido hialurónico.

#### Ejemplo de ensayo 1: Formación de complejo polión

Se preparó una solución acuosa al 1% (p/p) del ácido hialurónico cationizado obtenido en el Ejemplo de preparación 1. Se preparó por separado una solución acuosa al 1% (p/p) de ácido hialurónico (BIO HYARO 12<sup>TM</sup>: fabricado por Shiseido Company, Ltd.).

Aunque ambas soluciones eran líquidas transparentes en estado separado, se combinó una cantidad igual de ellas para provocar la precipitación de un gel. Este gel se considera como un complejo polión en que los grupos catiónicos en el ácido hialurónico cationizado y los grupos aniónicos en el ácido hialurónico forman pares de iones.

#### Ejemplo de ensayo 2: Formación de complejo polión

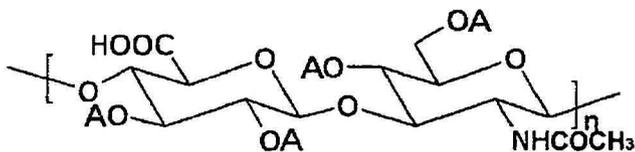
Se preparó una solución acuosa al 1% (p/p) del ácido hialurónico cationizado obtenido en el Ejemplo de preparación 1. Se preparó por separado una solución acuosa al 0,1% (p/p) del polímero de carboxivinilo.

Aunque ambas soluciones eran líquidas transparentes en estado separado, se combinó una cantidad igual de ellas para provocar la precipitación de un gel. Este gel se considera como un complejo polión que los grupos catiónicos en el ácido hialurónico cationizado y los grupos aniónicos en el polímero de carboxivinilo forman pares de iones.

**REIVINDICACIONES**

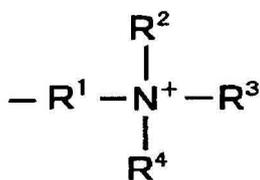
1.- Un ácido hialurónico cationizado, en el que al menos una parte de los átomos de hidrógeno hidroxílico del ácido hialurónico está remplazada con un grupo que tiene un grupo catiónico de amonio cuaternario.

2.- El ácido hialurónico cationizado de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el ácido hialurónico cationizado está representado por la siguiente fórmula (1):



(1)

en la que A representa un átomo de hidrógeno o un sustituyente representado por la siguiente fórmula (2):

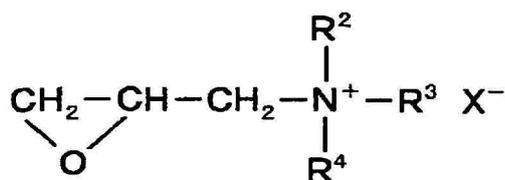


(2)

en la que R<sup>1</sup> representa un grupo alquileo que tiene de 3 a 5 átomos de carbono que puede tener un grupo hidroxilo, y cada R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> representa un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono; y

un grado promedio de sustitución con el sustituyente es 0,1 o más por una unidad de ácido hialurónico.

3.- El ácido hialurónico cationizado de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que el ácido hialurónico cationizado se obtiene haciendo reaccionar ácido hialurónico con un agente cationizante representado por la siguiente fórmula (3):



(3)

en la que cada R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> representa un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono, y X representa un átomo de halógeno.

4.- Un complejo polión, que está formado con el ácido hialurónico cationizado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y un material biocompatible aniónico.

5.- El complejo polión de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el material biocompatible aniónico es ácido hialurónico.

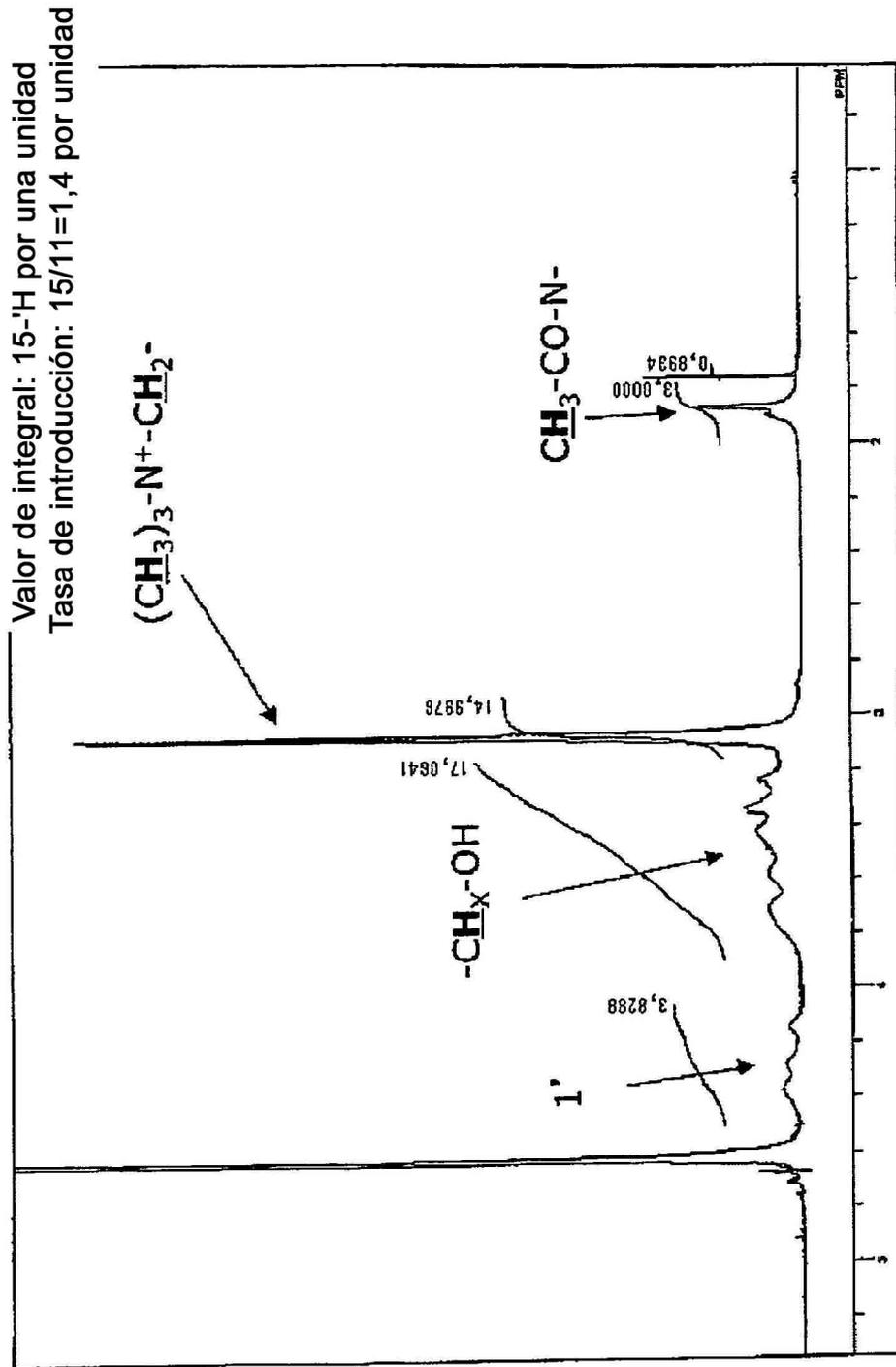


Fig. 1