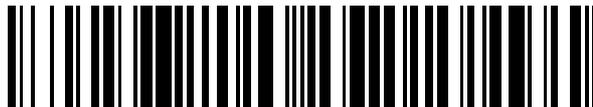


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 429**

51 Int. Cl.:

C08B 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.04.2007 E 07728579 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.02.2016 EP 2010574**

54 Título: **Producción y uso de compuestos de polisacárido-QUITOSÁN modificados y método para mejorar la preparación de compuestos de medicamentos-HES**

30 Prioridad:

26.04.2006 DE 102006020035

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

04.03.2016

73 Titular/es:

**B. BRAUN MELSUNGEN AG (100.0%)
CARL-BRAUN-STRASSE 1
34212 MELSUNGEN, DE**

72 Inventor/es:

**MEIER, BERND HORST y
MEIER, NELE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 562 429 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

Producción y uso de compuestos de polisacárido-QUITOSÁN modificados y método para mejorar la preparación de compuestos de medicamentos-HES

- 5 La invención se refiere a un producto de unión adecuado como soporte para medicamentos, así como al compuesto derivado de éste, que porta medicamentos. La invención se refiere, además, a un procedimiento así como a un dispositivo para la preparación de estos productos de unión y de los compuestos. Además de esto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que contiene estos productos de unión y compuestos, así como a su utilización para la preparación de un medicamento infundible para el tratamiento de una enfermedad.

Aspecto técnico

- 10 El documento EP-A-1230935 describe la introducción de moléculas de medicamento en polisacáridos, la cual, en vista de la frecuencia de las moléculas de medicamento unidas por molécula de polisacárido y el tipo de unión de estas moléculas, tiene lugar sin embargo de forma no homogénea. Así, se puede observar que a algunas moléculas de polisacárido se une un gran número de moléculas más pequeñas de medicamento, mientras que otras se quedan
15 ampliamente desocupadas. Por ello, por una parte en los deseados productos de acoplamiento disminuye claramente el rendimiento y, por otra, es muy complicado separar los deseados productos de acoplamiento, es decir los compuestos de polisacárido con el número deseado de moléculas introducidas, de los productos de acoplamiento no deseados. Si se llevan a cabo reacciones de acoplamiento, en las cuales los medicamentos deben ser unidos a la molécula de almidón por medio de moléculas de enlazador (linker), puede llegar a que se produzcan reticulaciones transversales no deseadas de los propios polisacáridos.

- 20 El evitar tales reticulaciones transversales es posible en el caso especial de que exactamente una molécula del principio activo medicamentoso se tenga que unir respectivamente a una molécula de polisacárido. Aquí existe la posibilidad de unir este medicamento al grupo aldehído terminal del monómero glucosa terminal del almidón, tal como se describe en el documento DE 102 09 822 A1.

- 25 Sin embargo, en el caso de la unión de varios medicamentos a través de moléculas enlazadoras polivalentes se pierde la posibilidad de controlar con regioselectividad la unión, respectivamente la sustitución. Una correspondiente unión de medicamentos con almidón hidroxietílico (HES) en el sentido de una "HESilación" de principios activos, o sea el acoplamiento químico de diferentes variantes de HES a medicamentos, se da a conocer en el documento DE 101 12 825 A1, describiéndose el transcurso de la reacción en una solución acuosa.

- 30 En los procedimientos citados, o bien una molécula activa como medicamento se une exactamente a un grupo aldehído terminal, o un número indeterminado de moléculas activas como medicamento se unen covalentemente de forma no específica, a través de enlazadores, con el almidón hidroxietílico.

- 35 En el caso de almidón hidroxietílico, como también en la mayoría de los medicamentos, a disposición de la unión están en primer lugar los grupos hidroxilo. Como enlazadores se pueden utilizar ácidos carboxílicos bifuncionales. Es conocido que los cloruros de ácidos dicarboxílicos actúan como agentes de reticulación para polisacáridos. En el caso de la esterificación con cloruros de ácidos dicarboxílicos, por ejemplo dicloruro de ácido malónico, junto a la deseada unión del principio activo medicamentoso al polisacárido por una unión éster, también tiene lugar una acusada reticulación de los polisacáridos entre sí.

Por unión de medicamentos al almidón hidroxietílico estos medicamentos pueden ser hidrofílicos. El compuesto HES-medicamento es además - como el propio almidón hidroxietílico - coloidsmóticamente activo.

- 40 Para el control y la influencia especial del efecto de los medicamentos unidos, se desean sin embargo otros principios activos físico-químicos útiles.

Hasta ahora, solo se podía disponer de estos principios activos utilizando cuerpos de albúmina complejos, por ejemplo albúmina humana o compuestos poliméricos biológicos en gran medida inertes.

- 45 El documento EP 1152013 da a conocer la reacción de un derivado de quitosano con heparina que contiene un grupo aldehído, en presencia de cianoborohidruro de sodio. A continuación tiene lugar la formación del complejo con azul de toluidina.

Roberts et al.: "The Coupling of Chitosan to Preformed polymer Beads" Makromolekulare Chemie, Rapid Communications, editorial Huthing y Wepf, Basilea, CH, tomo 10, nº 7, 1 de julio 1989, páginas 339-343, da a conocer el acoplamiento de carboximetildextrano y quitosano mediante la formación de una unión amida.

- 50 Paradosi et al.: "H NMR Relaxation Study of Chitosan-Cyclodextrin Network" Carbohydrate Research, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, NL, tomo 300, nº 1, 9. mayo 1997, páginas 77-84, da a conocer la reacción de quitosano con una ciclodextrina oxidada, seguido de la adición de cianoborohidruro de sodio.

Los ejemplos 3, 4, 6 del documento WO 96/02259 dan a conocer la reacción de quitosano con heparina en

presencia de cianoborohidruro de sodio.

El ejemplo del documento EP 51354 da a conocer la reacción de quitosano con heparina y NaCNBH_3 ó NaBH_4 .

5 El compuesto 21 en Yalpani et al.: "Some chemical and analytical aspects of polysaccharide modifications. 3. Formation of branched-chain, soluble chitosan derivatives" *Macromolecules*, ACS, Washington, DC, EE.UU. tomo 17, 1984, páginas 272-281, da a conocer el producto de unión de dextrano y quitosano.

Los ejemplos 5 a 7 del documento WO 94/16750 dan a conocer la reacción de quitosano con un quitosano, una amilosa o ácido hialurónico con grupos aldehído, seguido del tratamiento con cianoborohidruro de sodio. El ejemplo 9 da a conocer la subsiguiente reacción con un enlazador y una sustancia biológicamente activa.

10 El documento WO 2005/075501 da a conocer la reacción de quitosano con una ciclodextrina con un grupo aldehído, y NaCNBH_3 .

El resumen del documento JP 02-145602 da a conocer la reacción de quitosano con hidroxietilcelulosa, seguida de una reducción.

El ejemplo 1 del documento WO 96/02260 da a conocer la reacción de almidón oxidado, reticulado, con quitosano en presencia de NaCNBH_3 , seguida de heparina.

15 Park et al.: "Galactosylated chitosa-graft dextran as hepatocyte-targeting DANN carrier" *Journal of Controlled Release*, Eisevier, Amsterdam, NL, tomo 69, nº 1, 3 octubre 2000, páginas 97-108 da a conocer un compuesto que contiene quitosano y dextrano. La unión es un grupo amina.

20 Por lo tanto, la invención tenía por objeto poner a disposición un compuesto que fuera adecuado como soporte de medicamentos, y un compuesto derivado de éste que porta los medicamentos, presentando los compuestos, además, una buena solubilidad en agua, una muestra de carga específica con cargas tanto positivas como también negativas (dipolo), un bajo efecto alergénico y una capacidad total de degradación.

El problema en el que se basa la invención se solucionó por el objeto de las reivindicaciones.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra, como ejemplo, una vista en planta de una forma de ejecución del dispositivo descrito.

25 La figura 2 muestra una sección transversal de la misma forma de ejecución.

La figura 3 muestra una lámina de quitosano producida con el dispositivo descrito.

La figura 4 muestra la lámina de quitosano después de llevar a cabo el procedimiento conforme a la invención.

Descripción de la invención

La invención se refiere al producto de unión (I) descrito en las reivindicaciones.

30 Conforme a la invención, medicamentos, es decir compuestos farmacéuticamente activos pueden estar unidos covalentemente al producto de unión (I). Alternativamente, se pueden adosar medicamentos al producto de unión (I) por formación de complejos.

35 El producto de unión (I) describe por lo tanto compuestos de polisacáridos unidos a quitosano o quitina, los cuales se pueden utilizar como soportes para la sustitución regioselectiva del coloide unido a quitosano, respectivamente quitina.

40 Conforme a la invención, quitina significa un polisacárido lineal, constituido por los radicales 2-acetamido-2-desoxi- β -D-glucopiranososa (1 \rightarrow 4)-enlazados, en donde menos del 40% de los grupos acetamida son desacetilados a grupos amina. El quitosano es el derivado soluble en agua total o parcialmente desacetilado de la quitina, se compone por lo tanto de radicales 2-acetamido-2-desoxi- β -D-glucopiranososa y 2-amino-2-desoxi- β -D-glucopiranososa (1 \rightarrow 4)-enlazados. Es preferida una desacetilación en el quitosano entre 90% y 40%, más preferentemente de 75% a 60%.

El quitosano con un bajo grado de desacetilación, el cual por lo tanto solo presenta una pequeña proporción de grupos amina libres, es particularmente adecuado para una individualización de las moléculas del polisacárido X en una molécula de quitosano, puesto que las distancias entre las moléculas individuales del polisacárido X unidas al quitosano A se han incrementado así ventajosamente.

45 El polisacárido A comprende conforme a la invención al menos 10 unidades monómeras, preferentemente al menos 35, de modo más preferido al menos 50 unidades monómeras, es decir al menos 50 unidades de N-acetilglucosamina y/o de glucosamina.

Las unidades de N-acetilglucosamina y/o de glucosamina del polisacárido A pueden estar opcionalmente modificadas. Una modificación ventajosa incluye la metilcarboxilación a N,O-carboximetilquitosano. Una modificación igualmente ventajosa es el anhidrocloruro de quitosano.

El polisacárido X unido está parcial o totalmente sustituido.

- 5 Particularmente preferido es el polisacárido X seleccionado del grupo constituido por almidones, amilosas y/o amilopectinas.

Las moléculas de glucosa unidas glicosídicamente pueden estar sustituidas en las posiciones 2, 3 y 6, siendo preferible una sustitución en los átomos C-2 y C-6. La relación molar de los sustituyentes en X a X es preferentemente como máximo 10.000.

- 10 La sustitución molar MS se define como la relación del número total de los sustituyentes al número total de las unidades monómeras. Se prefiere una sustitución molar en el intervalo de 0,3 a 0,85 o menor que 0,3. Más preferida es una sustitución molar en el intervalo de 0,4 a 0,7 y de modo aun más preferido en el intervalo de 0,5 a 0,6.

- 15 El grado de sustitución DS se define como la relación del número total de las unidades monómeras sustituidas al número total de las unidades monómeras. Es preferido un grado de sustitución en el intervalo de 0,3 a 0,75 o menor que 0,3. Más preferida es una sustitución molar en el intervalo de 0,4 a 0,65 y de modo aun más preferido en el intervalo de 0,5 a 0,55, en donde el grado de sustitución asume como máximo el valor de la sustitución molar.

Parcialmente sustituido significa que el polisacárido presenta un grado de sustitución DS de al menos 0,02. El polisacárido vale como totalmente sustituido si la sustitución molar MS es mayor que 0,97.

- 20 La relación de sustitución C2/C6 se define como la relación del número total de sustituyentes acoplados en la posición C2 de la unidad de glucosa al número total de sustituyentes acoplados a la posición C6 de la unidad de glucosa. La relación de sustitución C2/C6 se sitúa preferentemente en el intervalo de 3 a 12, de modo particularmente preferido en el intervalo de 4 a 6.

- 25 El polisacárido X no es, como otros coloides sintéticos, una sustancia unitaria con peso molecular unitario. En lugar de eso, se presenta siempre una mezcla polidispersa de moléculas de diferentes tamaños, la cual se puede definir, por ejemplo, por su distribución de masas molares. La anchura y posición del máximo de la distribución de masas molares puede ser influenciada por los procedimientos de preparación y purificación habituales en el estado de la técnica.

- 30 El peso molecular medio Mw se define como la relación del peso molecular total al número total de partículas. La media numérica, respectivamente la media de la distribución de la masa molar Mn se puede determinar directamente por osmometría. Mn indica el valor en el cual 50% de las partículas presentan una mayor masa molar y 50% de las partículas, una masa molar más pequeña.

El Mw de la fracción del fondo, es decir el Mw del 10% de las moléculas más pequeñas del polisacárido X, es preferentemente mayor que 20.000, más preferentemente mayor que 15.000 e igualmente preferido entre 9.000, de modo particularmente preferido mayor que 6.500.

- 35 El Mw de la fracción punta, es decir el Mw del 10% de las moléculas más grandes del polisacárido X es preferentemente menor que 2.160.000, más preferentemente menor que 1.000.000, de modo igualmente preferido menor que 550.000 y particularmente preferido menor que 150.000.

- 40 El polisacárido X presenta preferentemente un peso molecular medio Mw de 10 kDa a 500 kDa. En una ejecución de la invención el Mw del polisacárido X vale 150 kDa a 350 kDa. En otra ejecución el polisacárido X tiene un Mw de 200 kDa.

- 45 Particularmente preferido como polisacárido X es un almidón hidroxietílico con un peso molecular inferior a 30.000 y un grado de sustitución DS menor o igual a 0,3, en el cual m se sitúa preferentemente entre 15 y 50. Preferido, además, como polisacárido X es un almidón hidroxietílico con un peso molecular inferior a 4.000, en el que m se sitúa preferentemente entre 100 y 200. Preferido, además, como polisacárido X es un almidón hidroxietílico con un peso molecular inferior a 1500, en el que m se sitúa preferentemente entre 300 y 750.

El cociente de polidispersividad Mw/Mn del polisacárido en una ejecución es menor que 9,5, preferentemente menor que 5,3, de modo particularmente preferido menor que 2,4.

- 50 Los sustituyentes del polisacárido se seleccionan del grupo constituido por grupos hidroxietilo y grupos carboximetilo. En una forma de ejecución los grupos hidroxilo de los polisacáridos hidroxietilsustituidos pueden estar reticulados transversalmente, por ejemplo a través de Z1 y Z2, tal como se describe más abajo, cuyos compuestos de partida portan preferentemente como grupos funcionales grupos carboxilo, isocianato, halogenuro de ácido carboxílico, carboxialqueno y/o éster.

En otra forma de ejecución se emplea como polisacárido X un almidón (formalmente) esterificado con ácidos mono-, respectivamente di-carboxílicos, por ejemplo almidón acetílico o almidón propionílico. Conforme a otra ejecución, en el polisacárido X se pueden encontrar ligados ácidos carboxílicos a través de uniones éter. Son preferidos los almidones carboxílicos del grupo constituido por almidón carboximetílico, almidón carboxietílico, almidón carboxipropílico. Los ácidos monocarboxílicos adecuados son, por ejemplo, ácido acético, ácido propanoico, ácido benzoico, ácido butírico, ácido acrílico, ácido salicílico, ácido valérico, ácido isovalérico, arginina, lisina e histidina, así como sus ésteres alquílicos C1-C10, halogenuros y anhídridos. Ácidos dicarboxílicos adecuados son, por ejemplo ácido adípico, ácido pimélico, ácido azelaico, ácido sebácico, ácido sórbico, ácido ftálico, ácido tereftálico, ácido isoftálico, ácido agaricínico, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido glutárico, ácido malónico, ácido tartárico, ácido málico, ácido glutámico, ácido aspártico, asparagina y glutamina, así como sus ésteres alquílicos C1-C10, halogenuros y anhídridos. Es preferido el dicloruro de ácido malónico.

El polisacárido X se selecciona del grupo constituido por almidón, amilosa y/o amilopectina, particularmente preferido es el almidón hidroxietílico (HES).

En una ejecución de la invención el polisacárido X es HES 200/0,5. En el caso de HES x/y se trata de un almidón hidroxietílico con un peso molecular medio M_w de x kDa, que presenta una sustitución MS de y, es decir HES 200/0,5 presenta un peso molecular medio M_w de 200 kDa y una sustitución molar MS de 0,5.

Puesto que quitina y quitosano son de por sí insolubles en agua, para la hidrofiliación sirve la unión de polisacáridos X hidrófilos al polímero quitina, respectivamente quitosano A, de por sí hidrófugos, bajo la formación del producto de unión (I) conforme a la invención. Con ello aumenta significativamente la polaridad de la molécula. La solubilidad en agua de la quitina, junto con la hidrofiliación, se puede mejorar decisivamente por incorporación de almidones hidroxietílicos, también por desacetilación, es decir por transformación de la quitina en quitosano. Por desacetilación alcalina de la quitina se forma quitosano, el cual a un valor del pH inferior a 6,5 se disuelve en disolventes orgánicos.

Es conocido, que el quitosano se puede preparar a partir de la quitina por saponificación de los grupos acetamida unidos a los grupos amino. La reacción se lleva a cabo, por ejemplo, bajo cuidadoso calentamiento de la quitina suspendida en NaOH 0,5 N. Controlando la temperatura de la reacción se puede dirigir bien la magnitud de esta saponificación. Por ejemplo, la quitina suspendida en ácido acético 2 N, bajo atmósfera de gas inerte se hace reaccionar con NaOH 0,5 N y se calienta. La proporción de los grupos amino libres del quitosano se puede controlar con ayuda de la reacción de Van-Slike.

Los compuestos de quitina y quitosano tienen la ventaja de ser totalmente biodegradables. Los compuestos se degradan por la quitinasa, lisozima y otras enzimas lisosomales. Los compuestos de quitina y quitosano biocompatibles y degradables enzimáticamente, por la modificación con polisacáridos conforme a la invención, los cuales opcionalmente están sustituidos, mejoran ventajosamente para su utilización como sustancia de infusión para un gran número de indicaciones. En este caso, m, es decir la relación molar de X a A, juega un papel decisivo.

Es conocido, que el quitosano posee propiedades como formador de complejos y por ejemplo con los metales de transición tales como cobre, cinc y cadmio forma complejos selectivamente. El quitosano tiene, además, la propiedad de absorber endotoxinas, ácidos nucleicos y nanopartículas. La capacidad del quitosano de absorber partículas y colorantes ya encuentra amplia aplicación en la industria cosmética y en la técnica de las aguas residuales. A una utilidad de estas propiedades en el cuerpo del ser humano se oponen las propiedades de disolución del quitosano. El quitosano se disuelve ventajosamente a bajo pH, menor que 6,5, en presencia de ácidos orgánicos, puesto que el compuesto polimérico bajo estas condiciones se presenta como polielectrolito soluble. El producto de unión (I) conforme a la invención representa una posibilidad para la adhesión a partículas, sustancias tóxicas, microorganismos y virus. Después de la adhesión, el producto de unión (I) es fagocitado por las células del sistema reticulohistiocitario, por lo que las sustancias adsorbidas se pueden eliminar del cuerpo.

En una forma de ejecución de la invención se ha unido coordinativamente un medicamento R3 al producto de unión (I) (formando complejo). R3 es preferentemente un ión metálico. De modo particularmente preferido R3 es hierro, preferentemente Fe^{II} , potasio, magnesio, cinc, calcio, gadolinio y/o cobre.

El producto de unión (I) formador de complejos, se puede elegir conforme a la invención de tal modo, que el complejo libere R3 en el cuerpo y se le pueda aportar R3 como elemento traza y/o como mineral importante. En otra forma de ejecución el producto de unión (I) formador de complejos se elige de tal modo, que el complejo no pueda liberar R3 en el cuerpo, para hacer posible, por ejemplo, la aplicación del complejo como medio de contraste, preferentemente con R3 = gadolinio.

No solo los productos de unión (I) conformes a la invención que presentan los polisacáridos X en base de unidades de glucosa y sus modificaciones, tales como almidón hidroxietílico, almidón carboxietílico y dextranos, sino sobre todo también los productos de unión (I) que presentan los polisacáridos X en base de galactosa y manosa y sus modificaciones, son bien adecuados para su introducción en el cuerpo humano y para la administración parenteral.

Un almidón hidroxietílico a emplear ventajosamente como polisacárido X presenta un MW < 130.000 y un DS entre

0,3 y 0,7. La relación C2/C6 del almidón hidroxietílico que se ha de emplear como polisacárido X se sitúa ventajosamente entre 4 y 6. Cuando el producto de unión (I) se emplea para la adsorción a antígenos, respectivamente para su opsonización, se emplean como polisacárido X almidones hidroxietílicos con un peso molecular < 60 Dalton, de modo particularmente ventajoso de 1500 a 10.000 Dalton. En contrapartida, el número m de unidades de polisacárido X introducidas en el polisacárido A debería ser lo suficientemente grande como para garantizar una correspondiente hidrofiliación del compuesto. La magnitud del número m depende esencialmente de la magnitud del polisacárido X y del número de sus grupos amino libres. Los polisacáridos X, después de su entrada en los macrófagos, son hidrolizados rápidamente de forma lisosomal y evacuados por vía renal, o sea no son almacenados. El conocido inventario de enzimas de los lisosomas macrocarios puede hidrolizar la unión amina y/o amida entre A y X en función de la constitución de A y X, por un lado y de la magnitud de m, por otro. Las moléculas de almidón hidroxietílico liberadas se sitúan entonces claramente por debajo del límite de exclusión de los riñones (60.000 Dalton).

Los productos de unión (I) conformes a la invención, en función de sus propiedades fisicoquímicas calculables y mensurables, se pueden utilizar como medicamento infundible con las indicaciones como virostático, antibiótico, especialmente antimicótico, como intercambiador de iones, medio de adsorción de partículas y moléculas cargadas, así como también como sustituyente coloidal de la sangre y anticoagulante. Propiedades fisicoquímicas importantes son la viscosidad, la viscosidad dinámica, la presión coloidosmótica, la conductividad eléctrica, la impedancia eléctrica, estabilidad térmica y capacidad de esterilización en autoclave de las soluciones, así como la transmisión óptica, extinción, el comportamiento al llevar a cabo una electroforesis, capacidad de adsorción y capacidad de ligar agua. La solución de un producto de unión (I) conforme a la invención es preferentemente estable térmicamente y se puede esterilizar en autoclave. Los productos de unión (I) conforme a la invención presentan para la adsorción preferentemente una suficiente capacidad de unión para la sustancia que se ha de adsorber. La capacidad de adsorción para partículas cargadas se puede evaluar también por electroforesis.

Conforme a la invención el producto de unión (I) puede estar sustituido, de modo que radicales de la fórmula (II) se unen covalentemente a X



y/o de modo que radicales de la fórmula (III) se unen covalentemente a A



en donde R1 es un radical molecular farmacéuticamente activo, R2 es un radical molecular farmacéuticamente activo, y R1 y R2 pueden ser iguales o diferentes, y en donde Z1 es un enlazador que está unido covalentemente tanto a R1 como también a X, Z2 es un enlazador que está unido covalentemente tanto a R2 como también a A, c = 1 ó 0, d = 1 ó 0, y en donde la relación molar del radical de la fórmula (II) a X es a, la relación molar del radical de la fórmula (III) a A es b, a es un número entero de 0 a 1000, b es un número entero entre 0 y 1000, y al menos a ó b son distintos de 0.

Preferentemente, a es 1, 2, 3, 4 ó un número entero hasta 150, 350 ó 750.

Preferentemente, b es 1, 2, 3, 4 ó un número entero hasta 150, 350 ó 750.

Como moléculas R farmacéuticamente activas que como R1 y/o R2 deben ser unidas al producto de unión (I), entran en consideración todas las sustancias que se puedan unir covalentemente al producto de unión (I), es decir que presenten un grupo funcional que pueda reaccionar con un grupo funcional complementario de X y/o de A, por ejemplo bajo la formación, según el grupo funcional, de un éster de ácido carboxílico, una amida de ácido carboxílico y/o uretanos. Son preferidas moléculas farmacéuticamente activas, que con el producto de unión (I) están en condiciones de formar un éster de ácido carboxílico. De modo particularmente preferido R1 y/o R2 se seleccionan del grupo constituido por radicales de aminoácidos, radicales peptídicos y radicales protéicos.

R se selecciona de modo particularmente preferido del grupo constituido por antibióticos, quimioterapéuticos, citostáticos, antígenos, oligonucleótidos, mediadores, falsos sustratos metabólicos y sustancias citotóxicas.

Estos medicamentos se unen covalentemente al producto de unión (I) y son absorbidos de forma macrocitaria.

Para la unión covalente de R a X, así como también a A, se dispone fundamentalmente de dos posibilidades de unión. R puede entrar en una unión con un grupo amino libre del quitosano. R se puede unir igualmente a uno de los grupos hidroxilo de X y/o de A.

Partiendo de un apropiado polisacárido X y/o A portador de grupos amino (-NH₂) puede tener lugar la unión de principios activos medicamentosos R, que posean funcionalidades, las cuales se seleccionan de

Carboxilo- (-COOH),

Halogenuro de ácido carboxílico- (-C(O)Cl, -C(O)Br, y/o -C(O)I),

Carboxilalquileo- $-(\text{CH}_2)_q\text{-COOH}$, con $q = 1$ a 10) ó

Grupos éster $(-\text{COOalq.}$, siendo alq. un grupo alquilo con uno a siete átomos de carbono).

Por el contrario, X y/o A, que posea estas funcionalidades, puede entrar en una unión con principios activos medicamentosos R que porten grupos amino $(-\text{NH}_2)$.

- 5 Partiendo de un apropiado polisacárido X y/o A portador de grupos hidroxilo $(-\text{OH})$, puede tener lugar la unión de principios activos medicamentosos R que tengan funcionalidades, las cuales se seleccionan de

Isocianato- $(-\text{NCO})$,

Carboxilo- (COOH) ,

Halogenuro de ácido carboxílico- $(-\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, $-\text{C}(\text{O})\text{Br}$, y/o $-\text{C}(\text{O})\text{I}$),

- 10 Carboxilalquileo- $-(\text{CH}_2)_q\text{-COOH}$, con $q = 1$ a 10) ó

Grupos éster $(-\text{COOalq.}$, siendo alq. un grupo alquilo con uno a siete átomos de carbono).

Por el contrario, X y/o A, que posea estas funcionalidades, puede entrar en una unión con medicamentos R que porten grupos hidroxilo $(-\text{OH})$.

- 15 Si $c = 0$, preferentemente R1 está unido directamente a X a través de una unión éster de ácido carboxílico, amida de ácido carboxílico y/o uretano. Si $d = 0$, preferentemente R2 está unido directamente a A a través de una unión éster de ácido carboxílico, amida de ácido carboxílico y/o uretano.

En otra forma de ejecución de la invención, se pueden emplear adicionalmente moléculas bi-, tri- o poli-funcionales para la unión de un enlazador, el cual forma la unión del medicamento R con X y/o A.

- 20 Compuestos de partida adecuados para los enlazadores Z1 y/o Z2 se seleccionan de radicales de hidrocarburos lineales o ramificados, saturados o insaturados, alifáticos o alicíclicos con 1 a 22, preferentemente 2 a 15, de modo particularmente preferido 3 a 8 átomos de carbono; grupos arilo, aril- $\text{C}_1\text{-C}_4$ -alquilo y aril- $\text{C}_2\text{-C}_6$ -alqueno con 5 a 12, preferentemente 6 a 12, de modo particularmente preferido 6 átomos de carbono en el radical arilo, los cuales eventualmente pueden estar sustituidos con grupos $\text{C}_1\text{-C}_6$ -alquilo y/o $\text{C}_2\text{-C}_6$ -alcoxi; o grupos heteroarilo, heteroaril- $\text{C}_1\text{-C}_4$ -alquilo y heteroaril- $\text{C}_2\text{-C}_6$ -alqueno con 3 a 8 átomos de carbono en el radical heteroarilo y uno o dos heteroátomos seleccionados de N, O y S, los cuales pueden estar sustituidos con grupos $\text{C}_1\text{-C}_6$ -alquilo y/o $\text{C}_2\text{-C}_6$ -alcoxi, y

- 25 en donde los compuestos de partida para el enlazador Z1 contiene 2 a 20 grupos funcionales para la formación de los enlaces covalentes con R1 y X, y en donde los compuestos de partida para el enlazador Z2 contienen 2 a 20 grupos funcionales para la formación de los enlaces covalentes con R2 y A, habiéndose seleccionado los grupos funcionales respectivamente independientemente entre sí, de

Hidroxilo $(-\text{OH})$,

Amino $(-\text{NH}_2)$,

Carboxilo $(-\text{COOH})$,

Isocianato $(-\text{NCO})$,

- 35 Halogenuro de ácido carboxílico- $(-\text{C}(\text{O})\text{Cl}$, $-\text{C}(\text{O})\text{Br}$, y/o $-\text{C}(\text{O})\text{I}$),

Carboxilalquileo- $-(\text{CH}_2)_q\text{-COOH}$, con $q = 1$ a 10) ó

Grupos éster $(-\text{COOalq.}$, siendo alq. un grupo alquilo con uno a siete átomos de carbono).

- 40 En una forma de ejecución preferida se emplean moléculas bifuncionales para la formación de un enlazador. Igualmente preferidas son las moléculas trifuncionales para la formación de un enlazador. Particularmente preferidas para la formación de un enlazador son moléculas bifuncionales y trifuncionales, que portan grupos funcionales idénticos.

- 45 Compuestos particularmente adecuados son, por ejemplo, los ácidos dicarboxílicos tales como ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido azelaico, ácido sebáico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido sórbico, ácido ftálico, ácido tereftálico, ácido isoftálico, ácido agaricínico, ácido cítrico, así como sus alquilésteres $\text{C}_1\text{-C}_{10}$, halogenuros y anhídridos; diisocianatos como, por ejemplo, toluilendiisocianato, bitoluilendiisocianato, dianisidindiisocianato, tetrametilendiisocianato, hexametilendiisocianato, m-fenilendiisocianato, m-xililendiisocianato, $\text{C}_1\text{-C}_6$ -alquilbencenodiisocianato, 1-cloro-benceno-2,4-diisocianato,

ciclohexilmetanodiisocianato, 3,3'-dimetoxidifenilmetano-4,4'-diisocianato, 1-nitrobenzeno-2,4-diisocianato, 1-alcoxibenceno-2,4-diisocianato, etilendiisocianato, propilendiisocianato, ciclohexileno-1,2-diisocianato, 3,3'-dicloro-4,4'-bifenilendiisocianato, difenilendiisocianato, 2-clorotrimetilendiisocianato, butileno-1,2-diisocianato, etilendiisocianato, difenilmetano-4,4'-diisocianato, difeniletandiisocianato, 1,5-naftalendiisocianato, ciclohexandiisocianato e isoforandiisocianato; dioles como, por ejemplo etilenglicol, propilenglicol, butilenglicol y neopentilglicol, pentanodiol-1,3,5-metilpentadiol-1,5, bisfenol A, 1,2- ó 1,4-ciclohexanodiol, caprolactondiol (producto de reacción de caprolactona y etilenglicol), bisfenoles hidroxialquilados, trimetilolpropano, trimetiloletano, pentaeritritol, 1,6-hexanodiol, 1,7-heptanodiol, 1,8-octanodiol, 1,4-butanodiol, 2-metil-1,8-octanodiol, 1-9-nonanodiol, 1,10-decanodiol, ciclohexanodimetilol, di-, tri- y tetra-etilenglicol, di-, tri- y tetra-propilenglicol, polietileno- y polipropileno-glicoles con un peso molecular medio de 150 a 15.000, trimetiloletano, trimetilolpropano y pentaeritritol; y/o diaminas como, por ejemplo 1,2-diaminoetano, 1,2- ó 1,3-diaminopropano, 1,2-, 1,3- ó 1,4-diaminobutano, 1,5-diaminopentano, 2,2-dimetil-1,3-diaminopropano, hexametildiamina, 1,7-diaminoheptano, 1,8-diaminooctano, trimetil-1,6-diaminohexano, 1,9-diaminononano, 1,10-diaminodecano, 1,12-diaminododecano, 1,2-diaminociclohexano, 1,4-diaminociclohexano, 1,3-ciclohexanbis(metilamina), 1,2-fenilendiamina, 1,3-fenilendiamina, 1,4-fenilendiamina, 4,4'-etilendianilina, 4,4'-metilendianilina, 4,4'-diaminostilbeno, 4,4'-tiodianilina, 4-aminofenildisulfuro, 2,6-diaminopiridina, 2,3-diaminopiridina, 3,4-diaminopiridina, 2,4-diaminopirimidina, 4,5-diaminopirimidina, 4,6-diaminopirimidina.

La utilización de tales enlazadores posibilita entre otras la combinación de X y/o A con los radicales de las moléculas R1 y/o R2 farmacéuticamente activas, si como molécula R farmacéuticamente activa se emplean compuestos que portan grupos funcionales idénticos a X y/o a A, por ejemplo, respectivamente alcoholes, o que por otro motivo no pueden reaccionar directamente entre sí bajo la formación de una unión. Los enlazadores adecuados, tanto con X y/o A, como también con los principios activos R1 y/o R2, forman preferentemente ésteres de ácidos carboxílicos, amidas de ácidos carboxílicos y/o uretanos. Particularmente preferidas son las uniones con un enlazador bifuncional, seleccionado de ésteres de ácidos carboxílicos.

Ventajosamente, se pueden introducir en X otros radicales especiales que permitan una unión química de la sustancia R1 farmacéuticamente activa, por ejemplo biotina, aminoácidos o radicales que portan grupos sulfuro tal como la cisteína.

Conforme a la invención, como molécula R farmacéuticamente activa, que como R1 y/o R2 han de unirse al producto de unión (I), se pueden emplear, además, medicamentos que se seleccionan del grupo constituido por agentes adelgazantes/inhibidores del apetito, terapéuticos de la acidosis, aminoácidos (por ejemplo histidina) o aminoácidos modificados, analépticos/antihipoxémicos, analgésicos/antireumáticos, antihelmínticos, antilépticos, antianémicos, antiarrítmicos, antibióticos/antiinfecciosos, antidemencias (nootrópicos), antidiabéticos, antidotos, antieméticos/antivertiginosos, antiepilépticos, antihemorrágicos (antifibrinolíticos y otros hemostáticos, antihipertónicos, antihipoglucémicos, antihipotónicos, anticoagulantes, antimicóticos, agentes antiparasitarios (internos), antiflogísticos, antitusivos/expectorantes, agentes arterioescleróticos, terapéuticos de balneario y agentes para la terapia termal, betareceptores, bloqueantes del canal del calcio e inhibidores del sistema renina-angiotensina, broncolíticos/antiasmáticos, colagoga y terapéuticos de las vías biliares, colinérgicos, corticoides (internos), dermatológicos (internos), dietéticos/terapéuticos de la alimentación, diagnósticos y agente preparativos de la diagnosis, diuréticos, agentes para fomentar la circulación, agentes antidependencia, inhibidores enzimáticos, preparados enzimáticos y proteínas de transporte, fibrinolíticos, geriátricos, agentes anti gota, agentes antigripales, ginecológicos, agentes antihemorroidales (proctológicos), hepáticos, hipnóticos/sedativos, hormonas del hipofisema, hormonas del hipotálamo, péptidos reguladores y sus inhibidores, inmunoterapéuticos y citoquinas, soluciones estándar para infusiones e inyecciones, soluciones para la perfusión de órganos, cardíacos, agentes para caries y periodontitis y otros preparados dentales, agentes coronarios, laxantes, reductores de lípidos, terapéuticos neurológicos, agentes estómago-intestino, agentes contra migraña, preparados minerales, relajantes musculares, narcóticos, hormonas de la glándula paratiroidea, reguladores del metabolismo del calcio, agentes para osteoporosis, preparados para neuropatías y otros agentes neurotrópicos, neurotransmisores (por ejemplo dopamina) o neurotransmisores modificados, oftálmicos, otológicos, agentes para el Parkinson y otros agentes contra perturbaciones extrapiramidales, psicofármacos, agentes contra sinusitis, roborantes/tónicos, terapéuticos de la glándula tiroidea, sueros, inmunoglobulina y vacunas, hormonas sexuales y sus inhibidores, espasmolíticos, inhibidores de la agregación trombocitaria, agentes para la tuberculosis, agentes para cambio andrógeno, urológicos, terapéuticos venosos, vitaminas, agentes para tratamiento de heridas, citostáticos e inhibidores de metástasis. Esto significa que R1 y/o R2 se basan en un medicamento seleccionado de la lista anterior.

De modo particularmente preferido R se selecciona a partir de inositol, digoxina y propofol.

En otra modificación, R se selecciona del grupo de compuestos del ácido neuramínico.

Los productos de unión (I) conformes a la invención se pueden emplear como material biocompatible, es decir aceptable por el cuerpo. Encuentran aplicación preferentemente como implantes, coadyuvantes quirúrgicos o componentes en instrumental médico.

Utilizaciones preferidas como implante son los implantes de larga o corta duración tales como, por ejemplo vasos sanguíneos sintéticos, implantes de vasos, válvulas cardíacas sintéticas, válvulas mitrales cardíacas, repuestos de venas y ligamentos, repuestos de cartílagos o parches para cerrar aberturas no deseadas en intervenciones

quirúrgicas, y apósitos para heridas.

Utilizaciones preferidas como coadyuvantes quirúrgicos son instrumental quirúrgico, artículos de un solo uso que se emplean intracorporalmente solo un breve tiempo, catéteres, tubos para catéter, material de sutura, material de sutura biodegradable, jeringuillas, tubos extracorporales para sangre, bolsas para sangre o bolsas para soluciones para aplicaciones intravenosas o láminas para bolsas.

Utilizaciones preferidas como componentes en instrumental quirúrgico son partes del corazón, de pulmones y de máquinas o filtros para diálisis, bolsas para sangre, tubos para infusiones, bombas peristálticas, o membranas para diálisis.

Igualmente preferida es la utilización como material para lentes de contacto, como aditivo a cosméticos para acondicionadores del cabello, cremas humectantes o laca de uñas, para la inmovilización de células y enzimas, como soporte para la cromatografía de afinidad y la separación de proteínas, para sistemas terapéuticos controlados (sistemas de control de liberación de fármacos), sistemas para la liberación preestablecida de principios activos o para el empleo en tecnologías para cultivos tisulares in vitro (ingeniería tisular).

Indicaciones particulares para los productos de unión (I) conformes a la invención se pueden ver en la preparación de microesferas en el marco de aplicaciones inmunológicas y en la unión con otros compuestos activos medicamentosos como soporte para la modulación de los efectos medicinales. Los productos de unión (I) conformes a la invención posibilitan la utilización de un componente ampliamente extendido en biología, de exoesqueletos con estabilidad de forma (de crustáceos, insectos y hongos) como armazón para vasos sanguíneos e implantes, los cuales, en función del grado de sustitución del polisacárido X y de la ulterior reticulación entre sí de los compuestos de quitina A, son totalmente biodegradables. Otra reticulación transversal de los componentes de quitina es posible, por ejemplo, por introducción de moléculas bivalentes de enlazador, como se indicó anteriormente, antes y después de la introducción de X. Para una utilización de este tipo los implantes se pueden conformar por unión electrostática a cuerpos cargados eléctricamente.

Fundamentalmente, cualquier cuerpo o conductor que se pueda cargar electrostáticamente puede ser utilizado como cuerpo cargado eléctricamente que no reacciona electroquímicamente con la lámina de quitosano a acoplar. Como material para electrodos son adecuados sobre todo plata, platino y oro. En lo que sigue, se va a exponer una pantalla adecuada como superficie de acoplamiento de un tubo de rayos catódicos, así como una placa de soporte rotativa cargada eléctricamente, que pueden ser utilizados como cuerpos cargados eléctricamente.

El producto de unión (I) se puede obtener preferentemente por una reacción en dos pasos de una quitina o quitosano A con un polisacárido X.

En el caso, en que

(a) el enlace es una unión amina, el procedimiento comprende los siguientes pasos:

- reacción del polisacárido A con el polisacárido X bajo formación de una imina, y
- subsiguiente reducción de la imina a amina, o

en el caso, en que

(b) el enlace es una unión amida, el procedimiento comprende los siguientes pasos:

- oxidación del grupo aldehído del polisacárido , y
- subsiguiente reacción del producto de oxidación con el polisacárido A.

En (a) reacciona, en el primer paso, el grupo amino de la quitina o del quitosano A con el grupo aldehído en posición final del polisacárido X bajo la formación de una base de Schiff. En un segundo paso la base de Schiff se reduce a la amina con un agente de reducción. La reducción de la imina a amina es bien conocida por el experto en la materia y se lleva a cabo bajo condiciones conocidas. Como agentes de reducción son adecuados, por ejemplo, los hidruros de tipo sal tales como LiAlH_4 , LiBH_4 , NaBH_4 ó NaBH_3CN . Sin embargo, se pueden emplear también otros agentes de reducción conocidos por el experto en la materia.

Para la formación de una unión amida (b) el grupo aldehído del polisacárido X se oxida primero y el productos de oxidación obtenido, una lactona y/o un ácido carboxílico, en un siguiente paso se hace reaccionar con un polisacárido A bajo la formación de una amida de ácido carboxílico (por reacción de la lactona y/o del ácido carboxílico con el grupo amino del polisacárido A). Para la oxidación se puede utilizar cualquier procedimiento adecuado, conocido por el experto en la materia. Preferentemente se utiliza un procedimiento de Hashimoto (descrito en Hashimoto et al. *Kunststoffe, Kautschuk, Fasern*, Vol. 9, (1992) págs. 1271-1279), en el cual se puede oxidar selectivamente un grupo terminal aldehído, reductor, de un sacárido, obteniéndose un éster reactivo (lactona). El grupo aldehído terminal del polisacárido X se oxida selectivamente por reacción con yodo en presencia de lejía de

potasio. Preferentemente se utilizan como reactivos una solución de yodo 0,1 N y/o una solución de KOH 0,1 N. En una forma de ejecución preferida de la invención, la reacción tiene lugar en disolventes orgánicos tales como DMSO ó etildimetilaminopropilcarbodiimida.

5 En la preparación del producto de unión (I) conforme a la invención bajo la formación de una base de Schiff (paso 1 de (a)) hay que tener en cuenta que tanto la quitina y el quitosano A como también el polisacárido X disponen en la molécula de un grupo final reductor. En la síntesis de los compuestos conformes a la invención se debe evitar por
10 ello, que los grupos finales reductores de los compuestos de quitina y quitosano A reaccionen por sí mismo con el o los átomos de nitrógeno de una quitina y/o quitosano A. Esta reacción de los grupos aldehído finales con los grupos amina del quitosano se impide en gran medida por la formación de una lámina de quitosano y/o de quitina. En este caso se formarían productos de acoplamiento que compiten con los productos de unión (I).

15 Por la utilización de quitosano, que no fue disuelto en disolventes orgánicos, se puede desplazar el equilibrio en el primer paso ciertamente a favor de la formación del producto de unión (I), sin embargo, los compuestos así formados permanecen en agregados y cúmulos (cluster) mayores, por lo que posteriores reacciones deseadas son perjudicadas fuertemente por el impedimento estérico. Por ejemplo, es casi imposible llevar a cabo un funcionalización regioselectiva de compuestos que han originado tales agregados o cúmulos.

20 La formación de agregados y cúmulos se puede evitar en medio ácido, puesto que el quitosano se disuelve bien en ácidos, por ejemplo en ácido acético. El polisacárido A se disuelve preferentemente en un disolvente que se selecciona del grupo constituido por ácidos orgánicos e inorgánicos débiles, diluidos, presentando el disolvente un valor del pH inferior a 6,5, preferentemente inferior a 5,5 y de modo particularmente preferido inferior a 5,0. De modo muy preferido el valor del pH se sitúa en un intervalo entre 2,0 y 6,0. Particularmente preferidos son aquellos disolventes que son degradables por el metabolismo humano y/o animal, tal como ácido acético y ácido láctico.

25 Una solución de quitosano se aplica sobre un soporte bajo la formación de una fina lámina. Puesto que la lámina de quitosano formada debe servir como matriz sólida para las siguientes reacciones y la formación de bases de Schiff se perturba por el ácido remanente de la solución, éste tiene que ser eliminado a ser posible totalmente. Esto tiene lugar por lavado de la lámina, por ejemplo con agua destilada o tampón fosfato con un valor del pH superior a 7,0. De este modo se evita una pérdida por aclarado del policatión quitosano, aún soluble con el bajo valor del pH, de la placa de soporte por la fuerte carga negativa conforme a la invención de la placa de soporte. Por el contrario, en el caso de placas cargadas positivamente se pudo observar frecuentemente una total pérdida de la lámina de
30 quitosano por enjuague. Lo mismo se pudo observar en tubos para rayos catódicos polarizados de forma correspondientemente positiva. Además, para evitar una pérdida de quitosano por aclarado, el medio de elución se aplica en rotación empezando desde la periferia hacia el centro. El valor del pH de la solución de elución que se separa por enjuague informa sobre la compleción de la eliminación del disolvente orgánico de carácter ácido.

Otra posibilidad para la eliminación del disolvente es preferentemente la evaporación del ácido acético utilizado como disolvente, y/o de otro disolvente.

35 Preferentemente se utiliza un disolvente que no reacciona con una de las sustancias o productos de partida. Especialmente se deberían emplear disolventes que no presenten grupos funcionales algunos que perturben la formación de bases de Schiff – como por ejemplo los grupos carboxilo -.

40 En una forma de ejecución preferida de la invención en el primer y/o segundo paso de la reacción se utiliza como disolvente diclorometano, tetrahidrofurano, metanol, etanol, dimetilsulfóxido o mezclas de ellos. Particularmente, para el primer paso de la formación de imina se prefiere como disolvente el diclorometano. Particularmente para el segundo paso de la reducción es preferido como disolvente el metanol.

45 Para el primer paso de reacción y, con ello, para la preparación conforme a la invención de los compuestos es de significado decisivo la estructura superficial de las láminas de quitosano preparadas. La formación de agregados y cúmulos se debe evitar en gran medida en la preparación de la estructura de la lámina. Son preferidas láminas de quitosano particularmente finas o de una sola capa. Láminas finas y/o de una sola capa posibilitan un mayor rendimiento del producto de unión (I). Además de esto, posibilitan un enjuiciamiento de la ulterior densidad de recubrimiento por medios ópticos, tales como láser y detectores de fluorescencia, microscopios de luz y de electrones.

50 El procedimiento conforme a la invención da lugar a láminas de quitosano que presentan pocas irregularidades. En contraposición con esto, el enjuiciamiento microscópico de las láminas de quitosano preparadas por inmersión o extensión muestra grandes irregularidades en la estructura de la lámina obtenida. También la retirada por disolución del disolvente orgánico con agua destilada, respectivamente con tampones fosfato, ocasionaba además una ondulación y un desprendimiento por disolución de las láminas preparadas. Si por el contrario el disolvente se separa una vez secada la lámina, se fomenta la formación de rasguños e irregularidades visibles
55 microscópicamente.

Por centrifugación de estructuras formadoras de láminas sobre placas soporte en rotación se pueden preparar láminas muy homogéneas con espesores de capa elegibles. Sin embargo, en este procedimiento la situación y

orientación de los grupos amino de las moléculas de quitosano A se deja en gran medida abandonada al azar. En la formación de la lámina los grupos amino pueden estar orientados hacia la placa de soporte o hacia la superficie libre. En el siguiente primer paso de la reacción, por el impedimento estérico van a poder reaccionar con el aldehído del polisacárido X únicamente aquellos grupos amino que estén orientados hacia la superficie libre.

5 Conforme a la invención, la posición y orientación del grupo amino en su forma protonizada (grupo amonio) es dirigida por la carga electrostática de la superficie de la placa de soporte. En el caso de una superficie cargada positivamente, por el rechazo electrostático se ordenan las moléculas de quitosano de tal manera que los grupos amonio no miran hacia la superficie de la placa de soporte.

10 El máximo grosor de la lámina de quitosano conforme a la invención es aquella en la que la orientación de los grupos catiónicos aún es determinada por el modelo de cargas eléctricas de la placa de soporte. En láminas de quitosano más gruesas, la orientación de los grupos protonizados se determina únicamente por las interacciones de las moléculas de quitosano entre sí. Por ello, el máximo grosor de lámina permitido depende de la fuerza de la polarización eléctrica de la placa de soporte.

15 La disposición de las moléculas de quitosano por la orientación de sus grupos amonio se mantiene, si el quitosano al separar el disolvente ácido vuelve a su forma insoluble, en la cual los grupos amino no están protonizados y, por consiguiente, no llevan ya ninguna carga positiva.

En una forma de ejecución la superficie de la placa de soporte se carga electrostáticamente con ayuda de rayos catódicos.

20 En la lámina (sólida) de quitosano obtenida hay significativamente más grupos amino orientados apartándose de la superficie de la placa de soporte que hacia la placa de soporte. Un líquido, en el que hay disuelto o suspendido un polisacárido X, se añade a la lámina. La solución presenta preferentemente un valor del pH en un intervalo en el cual no se disuelve el quitosano y en el cual sus grupos amino no se presentan protonizados. Preferido es un intervalo de pH de 6,5 o mayor, preferentemente un intervalo de 6,8 a 10, de modo particularmente preferido de 7,0 o mayor, aún más preferido de 7,5 o mayor que 8,0. La solución comprende preferentemente un tampón, de modo particularmente preferido un tampón fosfato.

25 Al mover la placa de soporte, preferentemente por rotación o sacudidas, se optimiza el contacto de los polisacáridos A y X que han de reaccionar entre sí. Si el polisacárido X ha reaccionado completamente con el quitosano A o se ha establecido el equilibrio que se tenía que alcanzar, al cabo de 30 minutos se separa el polisacárido X excedente.

30 Otra forma de ejecución representa la unión al quitosano del polisacárido X sustituido con carboximetilo. En este caso, junto al grupo aldehído en posición final de la molécula de polisacárido, también uno de los grupos carboxilo puede reaccionar con el grupo amino del quitosano bajo la formación de una base de Schiff.

Para la caracterización del compuesto, el polisacárido además de poder estar sustituido con grupos hidroxietilo o carboximetilo, también puede estar sustituido con fluoresceína u otros marcadores.

35 Por un segundo paso, en el cual la base de Schiff formada se puede reducir a amina bajo las condiciones bien conocidas por el experto en la materia, se obtiene el producto de unión (I). Para la reducción se añade preferentemente un hidruro de tipo sal, de modo particularmente preferido hidruro de litio y aluminio (LiAlH_4), hidruro de litio y boro (LiBH_4), cianoborohidruro de sodio (NaBH_3CN) ó borohidruro de sodio (NaBH_4).

40 En una forma de ejecución, los grupos hidroxilo del polisacárido X sustituido con hidroxietilo pueden reaccionar con ácidos dicarboxílicos o con halogenuros de ácidos dicarboxílicos, por lo que los radicales polisacárido unidos se reticulan transversalmente, o el polisacárido X reticulado transversalmente puede reaccionar con quitosano A. Para la reticulación transversal son adecuados, entre otros, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido adípico y otros halogenuros. La esterificación puede tener lugar de forma correspondiente a la reacción para dar el producto de unión (I), para lo cual como componente estructural se pueden utilizar las reticulaciones transversales intermoleculares.

45 Conforme a la invención, si A se encuentra unido en forma de lámina o de partícula, las moléculas del polisacárido X, en función de su concentración, del número de grupos amino libres desacetilados de A, así como de su modelo de carga, pueden ser aisladas arbitrariamente sobre la estructura estacionaria de A, por lo cual la separación entre sí de las moléculas individuales unidas del polisacárido X en el producto de unión (I) se puede elegir libremente en función de la distribución de los grupos amino de A. En el caso de separaciones suficientemente grandes entre los radicales individuales del polisacárido unidos a A, por ejemplo por adición de halogenuros de ácidos dicarboxílicos, no tiene lugar ninguna reticulación. En lugar de eso, bajo la formación de enlazadores, se pueden unir a X principios activos farmacéuticos, sin que se llegue a una reticulación transversal, en este caso no deseada. Esta estructuración sirve preferentemente a las moléculas de quitina y/o quitosano A con peso molecular $\text{MW} > 800.000$ suficientemente grande y a los polisacáridos X con $\text{MW} < 150.000$ relativamente bajo, presentándose A preferentemente en exceso.

55 En una forma de ejecución el procedimiento conforme a la invención comprende el siguiente paso ulterior:

Sustitución de X con un radical de la fórmula (II)



y/o

sustitución de A con un radical de la fórmula (III)



en donde R1 es un radical de molécula farmacéuticamente activa y R2 es un radical de molécula farmacéuticamente activa, y R1 y R2 pueden ser iguales o diferentes,

y

10 en donde Z1 es un enlazador, el cual está unido covalentemente tanto a R1 como también a X, Z2 es un enlazador, el cual está unido covalentemente tanto a R2 como también a A, $c = 1$ ó 0 , $d = 1$ ó 0 , y

en donde la relación molar del radical de la fórmula (II) a X es a, la relación molar del radical de la fórmula (III) a A es b, a es un número entero entre 0 y 1000, b es un número entero entre 0 y 1000, y al menos a ó b son diferentes a 0.

15 Un caso especial del procedimiento de síntesis para la introducción de medicamentos es la sustitución del producto de unión (I), en el cual radicales de la fórmula (II) anteriormente citada están unidos covalentemente a X, separándose entre sí A y X en un ulterior paso por escisión de la unión amina y/o amida. En otras palabras, después de la sustitución de X con un radical de la fórmula (II), en un siguiente paso se separan entre sí X y A. Al experto en la materia le son conocidas las condiciones bajo las cuales se puede llevar a cabo una adecuada escisión preestablecida de la unión A-X, es decir sin o con únicamente poco deterioro de la estructura de X, a la cual están unidos radicales de la fórmula (II). Procedimientos adecuados son, en función de R1 y de la unión entre X y A, entre
20 otros la hidrólisis en medios alcalinos, opcionalmente en presencia de un catalizador metálico, la hidrólisis enzimática, preferentemente la utilización de proteasas y la escisión de aminas de von Braun.

Los productos de tales reacciones de escisión son al menos el polisacárido X sustituido con radicales de la fórmula (II) y corresponden a los compuestos que en el documento EP-A-1230935 se describen como coloides modificados. El procedimiento conforme a la invención representa con ello una mejora del procedimiento, respectivamente, un
25 paso intermedio en la preparación de los compuestos descritos en el documento EP-A-1230935. Conforme al procedimiento, polisacáridos se sustituyen regioselectivamente con principios activos medicamentosos o con radicales, por aislamiento y orientación de los polisacáridos sobre una lámina de quitosano, uniendo covalentemente el grupo aldehído terminal del polisacárido, bajo la formación de una base de Schiff, con un grupo amino libre de una lámina de quitosano, orientada según su carga eléctrica. El procedimiento se puede llevar a cabo y dirigir mediante
30 el dispositivo.

En un paso ulterior es posible introducir regioselectivamente las sustancias R1 y/o R2 en el producto de unión (I), opcionalmente bajo la utilización de un enlazador. Para la introducción regioselectiva de sustituyentes se puede acoplar el compuesto en función de la carga a estructuras de electrodos cargadas de forma muy compleja. La orientación en función de las cargas de las moléculas de quitosano que forman la lámina, puede ser influenciada por
35 acoplamiento a electrodos planos nanoestructurados cargados eléctricamente. Estas bandas conductoras nanoestructuradas se pueden introducir al fuego en electrodos por procedimientos de microscopía electrónica en alto vacío.

La individualización de los polisacáridos X que se han de unir al polisacárido A se puede influenciar junto con la elección del grado de desacetilación del polisacárido A, es decir por el número de sus grupos amino capaces de reaccionar, también con ayuda de macromoléculas que, antes de la reacción del polisacárido A con el polisacárido X para dar el producto de unión (I), se acoplan a través de fuerzas de atracción al polisacárido X y, así, funcionan como mantenedores de distancias entre las moléculas individuales del polisacárido X. Es adecuada cualquier macromolécula que se pueda acoplar a un polisacárido X y pueda formar con él grandes asociaciones de moléculas acopladas paralelamente y que al mismo tiempo no presente grupos funcionales que, bajo las condiciones de
45 reacción de los siguientes pasos del procedimiento, los capacite para una reacción con el polisacárido X y/o el polisacárido A bajo la formación de una unión covalente. Esto significa, que para el acoplamiento de macromoléculas que no deben estar ligadas covalentemente en un producto de unión (I), entran en consideración macromoléculas, especialmente polisacáridos, los cuales por un lado no pueden entrar a formar una unión covalente con los grupos amino del quitosano por formación de una base de Schiff y que, sin embargo, por otro lado presentan fuerzas de atracción intermoleculares hacia el polisacárido, suficientemente fuertes.
50

Es conocido, que entre la kapa-carragenina y el acemanano actúan fuerzas de atracción intermoleculares muy fuertes, que llevan al acoplamiento de los dos polisacáridos entre sí. Así, por ejemplo, como en una ejecución especial, la kapa-carragenina con el acemanano pueden formar asociaciones moleculares acopladas paralelamente. Conforme a la invención, el polisacárido X forma, en un paso previo a la formación de la unión entre X y A, asociaciones moleculares con macromoléculas acopladas paralelamente, preferentemente con kapa-carragenina,
55

glucoproteínas o macromoléculas procedentes de membranas celulares. Estas macromoléculas no deberían presentar grupos funcionales algunos que, bajo las condiciones de reacción de los siguientes pasos los podrían capacitar a reaccionar con el polisacárido X y/o el polisacárido A bajo la formación de un enlace covalente.

5 Conforme a la invención, los grupos aldehído en posición final de la kapa-carragenina se pueden reducir, por ejemplo, por reacción con hidruros de tipo sal tales como borohidruro de sodio, primeramente en ausencia de la molécula de quitosano A. La kapa-carragenina sin grupo aldehído a reducir puede formar a continuación con el acetamanano cúmulos mayores. En la reacción del acetamanano con los grupos amina del polisacárido A, la kapa-carragenina sirve como mantenedor de distancias, sin que ella misma pueda ser ligada covalentemente al grupo amina. Una estrecha ocupación de los grupos amino del polisacárido A por acetamanano está impedida
10 estéricamente. Antes de la introducción de los principios activos medicamentosos R1 y/o R2, estos polisacáridos reducidos tienen que ser eluidos.

En una ejecución especial – después de que sus grupos funcionales, que pueden reaccionar con los polisacáridos X y/o A, se hayan separado y/o protegido con grupos protectores – se pueden utilizar macromoléculas, sintetizadas por microorganismos o células, como mantenedores de distancia, que se acoplan al polisacárido X para influir
15 estéricamente sobre la introducción de los polisacáridos X en un producto de unión (I). Conforme a la invención, tales macromoléculas incluyen polisacáridos y glucoproteínas de las membranas celulares de bacterias, hongos y levaduras.

En el caso de utilizar polisacáridos X con alta tendencia a fuerzas de unión intermoleculares, como por ejemplo las fuerzas de van-der-Waals, se puede conferir al producto de unión (I) una elevada afinidad por estructuras biológicas
20 no reducibles, introducidas para su influencia estérica.

En una ejecución, la ulterior sustitución de X y/o A se influye por la formación de un complejo con metales, así como con electrodos y otros medios electroquímicos.

Los productos de unión (I) presentan una dispersión del peso molecular y un reparto de las cargas en la molécula y se diferencian, además, igualmente de las sustancias de partida por su peso molecular y el reparto de cargas en la
25 molécula. Por lo tanto, es posible una separación de las sustancias de partida de los productos de reacción y/o una purificación de los productos de reacción por cromatografía de permeación en gel y/o por electroforesis, por lo que los productos de reacción, correspondientemente a su tamaño (más exactamente: su volumen hidrodinámico) y/o a su movilidad electroforética, se purifican y/o se separan de las sustancias de partida.

En una forma de ejecución de la invención, un medicamento R3 se une por coordinación al producto de unión (I) (forma complejo). R3 es preferentemente un ión metálico. De modo particularmente preferido R3 es hierro, preferentemente Fe^{II}, potasio, magnesio, cinc, calcio, gadolinio y/o cobre.

El producto de unión (I) formador de complejos se puede elegir conforme a la invención de tal modo que el complejo pueda liberar R3 en el cuerpo para aportarle un elemento traza o un mineral importante. En otra forma de
35 ejecución, el producto de unión (I) formador de complejos se elige de tal modo que el complejo no pueda liberar R3 en el cuerpo, por ejemplo para posibilitar la administración del complejo preferentemente como agente de contraste, con R3 = gadolinio.

El dispositivo descrito se utiliza preferentemente para la preparación del producto de unión (I). El dispositivo que se da a conocer comprende una placa de soporte 1 cargable electrostáticamente, de un material aislante tal como
40 vidrio, material sintético o ámbar, de modo que por la carga electrostática de la placa de soporte 1 se pueda formar un campo eléctrico. Con ayuda del dispositivo conforme a la invención se pueden crear superficies nanoestructuradas a partir de la fase líquida. Además, de forma preestablecida se pueden funcionalizar geométricamente superficies para fijar electrostáticamente moléculas específicas o partículas microscópicas. Mediante estructuración electrostática, las partículas que se encuentran en líquidos, por ejemplo moléculas de quitosano disueltas, se pueden mover y posicionar de forma preestablecida por medio de campos eléctricos.

En una forma de ejecución preferida del procedimiento conforme a la invención el procedimiento comprende los siguientes pasos: deposición de una solución o suspensión de quitosano o quitina A sobre la placa de soporte (1); carga electrostática de la placa de soporte (1) para formar un campo eléctrico; preparación de una lámina de quitosano, respectivamente de quitina; reacción del quitosano o quitina A por puesta en contacto de la película de quitosano o quitina con una solución o suspensión del polisacárido X a un valor del pH superior a 6,8 bajo formación
45 de una base de Schiff; reducción de la base de Schiff por adición de un agente reductor, por lo que se obtiene el producto de unión (I). En un paso ulterior, puede seguir una reacción del producto de unión (I) con R1 y opcionalmente Z1 y/o con R2 y opcionalmente Z2, por lo que se obtiene el producto de unión (I) sustituido con radicales de la fórmula (II) y/o (III). A continuación, se puede llevar a cabo el siguiente paso: reacción del producto de unión (I) sustituido con al menos radicales de la fórmula (II) bajo escisión de la unión amina y/o unión amida entre
50 A y X, por lo que se obtiene el polisacárido X sustituido al menos con radicales de la fórmula (II).

En una ejecución la placa de soporte 1 puede ser rotativa, para lo que el número de revoluciones de la rotación se puede ajustar de forma dirigitible por medio de un motor y determinar mediante un medidor del número de

revoluciones. La placa de soporte es preferentemente plana. En otra forma de ejecución la placa de soporte está configurada de forma cóncava formando así un recipiente.

5 Placas de soporte curvadas de forma cóncava posibilitan llevar a cabo reacciones químicas en el recipiente de reacción formado por la curvatura. En este caso, la mezcla de los reactivos añadidos se puede llevar a cabo por rotación lenta del recipiente sin desprendimiento o perturbación de las estructuras laminares formadas. Aumentando el número de revoluciones se pueden evacuar por centrifugación, es decir separar los reactivos por encima del borde sin perjudicar las estructuras laminares.

10 La placa de soporte 1 se puede cargar electrostáticamente con las medidas conocidas en el estado de la técnica. En una forma de ejecución, un lado de la placa de soporte en rotación se puede aproximar a una superficie de papel tensado, introducido aisladamente, y ser así cargada electrostáticamente de forma negativa. Se origina una carga positiva contraria sobre el lado contrario de la placa de soporte.

15 Opcionalmente, la placa de soporte 1 se puede cargar electrostáticamente de forma dirigible. En otra forma de ejecución, se han dispuesto electrodos en o sobre la superficie de la placa de soporte. Al cargar los electrodos pueden aparecer modelos de carga complejos sobre la superficie de la placa de soporte 1. Los electrodos están conectados a un generador de corriente. En una forma de ejecución preferida la placa de soporte 1 está conectada por su eje con el generador de corriente. En una ejecución, la conexión de una placa soporte 1 rotativa se efectúa a través de contactos rozantes.

20 Opcionalmente, un dispositivo para la creación de una carga eléctrica también es capaz de medir dicha carga. En una forma de ejecución de la invención el dispositivo dado a conocer comprende al menos un dispositivo 2 para la creación y medición de una carga electrostática sobre la superficie de la placa de soporte, el cual es capaz de cargar electrostáticamente indistintamente el lado superior y el lado inferior de la placa de soporte rotativa. En una ejecución de la invención el dispositivo conforme a la invención comprende al menos una instalación 3 para la creación y medición de diferentes cargas sobre la superficie de la placa de soporte, comprendiendo la instalación un cátodo que está eléctricamente conectado de forma conductora con el centro de la placa de soporte rotativa, así como un ánodo de forma anular sobre un círculo exterior de la superficie de la placa soporte, estando conectados los electrodos a un generador de corriente.

25 En una forma de ejecución, sobre el centro de la placa de soporte está dispuesto un electrodo. Por aproximación a la placa de soporte, el electrodo se puede conectar eléctricamente de forma conductora con la lámina de quitosano, respectivamente con los reactivos añadidos. En una forma de ejecución preferida el material del electrodo es grafito.

30 En otra forma de ejecución de la invención la placa de soporte no está dispuesta de forma giratoria, sino que la placa de soporte recubierta con una lámina de quitosano está colocada sobre la pantalla de al menos un tubo de rayos catódicos. Preferentemente, la placa de soporte sobre la pantalla del tubo de rayos catódicos está diseñada como un recipiente de reacción. Por la correspondiente modulación del rayo catódico mediante placas deflectoras y/o bobinas deflectoras se pueden crear sobre la superficie de la placa de soporte modelos de carga específicos, los cuales influyen de forma específica tanto en el acoplamiento de los grupos amino del quitosano, cargados positivamente, como también en las siguientes reacciones químicas – desplazamiento de electrones y oxidoreducciones -.

35 Para la creación de una distribución de cargas específica sobre la placa de soporte integrada en el tubo de rayos catódicos, se puede acudir a procedimientos con producción de imágenes, tales como por ejemplo a las estructuras tomadas por microscopía electrónica. En una ejecución particular de este método el rayo catódico se puede desviar por bobinas deflectoras hacia una ventana de visualización, de manera que el modelo de carga, que incide sobre la placa de soporte, pueda ser observada por deflexión en la ventana de visualización. La distancia entre cátodo y placa de soporte puede ser menor o mayor que la distancia entre cátodo y ventana de visualización. Por el correspondiente ajuste de las distancias entre cátodo y ventana de visualización, así como entre cátodo y placa de soporte, el modelo de carga generado sobre la placa de soporte se puede visualizar aumentado en una ventana de visualización (más separada). Por la correspondiente conexión, tanto del microscopio electrónico emisor de imágenes como también del tubo de rayos catódicos que carga la placa de soporte, con un ordenador y la observación de las estructuras formadas sobre la placa de soporte con el microscopio electrónico conectado, se pueden ajustar entre sí los dos sistemas. Preferentemente, el rayo catódico y los medios para su control y deflexión están conectados a un ordenador que obtiene informaciones de un microscopio electrónico o de otro aparato emisor de imágenes.

40 El dispositivo dado a conocer puede comprender, además, instalaciones 6 para la iluminación a través de la placa de soporte 1, así como detectores de luz para la medición de la luz que pasa a través de la placa de soporte 1. En una ejecución, el dispositivo comprende instalaciones para la iluminación de la superficie de la placa de soporte, así como detectores de luz para la medición de la luz reflejada por la placa de soporte. Independientemente de esto, el dispositivo puede comprender instalaciones para la magnetización de las láminas formadas sobre el lado superior de la placa de soporte, así como para la medición de los campos magnéticos sobre el lado superior de la placa de soporte. La instalación se ha dispuesto preferentemente de forma móvil sobre y/o debajo de la placa de soporte. Preferentemente, en relación con la placa de soporte, aquella se puede mover al menos en una dirección, por ejemplo mediante un motor 61 paso a paso y un eje 62.

Preferentemente, el dispositivo comprende una instalación de dosificación, respectivamente de pipeta 4, dispuesta por encima del centro de la placa de soporte 1, cuya distancia a la placa de soporte puede ser modificada. Opcionalmente, el dispositivo comprende otras instalaciones de dosificación, que están distanciadas del centro de la placa de soporte de forma arbitraria, pudiendo ser modificadas también, de forma controlable, sus alturas por encima de la placa de soporte.

La figura 1 muestra una vista en planta de una ejecución a modo de ejemplo del dispositivo conforme a la invención. La figura 2 muestra una sección transversal de la misma ejecución, en la cual

- 1 es una placa de soporte cargable electrostáticamente de forma controlable, la cual puede girar con un número de revoluciones ajustable;
- 2 es una instalación para la creación y medición de una carga electrostática de la superficie de la placa de soporte 1, por ejemplo por diferente carga electrostática del lado superior e inferior de la placa de soporte rotativa;
- 3 es una instalación para la creación y medición de diferentes cargas sobre la superficie de la placa de soporte 1, por ejemplo por la incorporación de un cátodo, que puede estar conectado de forma eléctricamente conductora con el centro de la placa de soporte rotativa, y de un ánodo de forma anular sobre un círculo exterior de la superficie de la placa de soporte, estando conectados los electrodos a un generador de corriente;
- 4 es una instalación de dosificación, respectivamente de pipeta situada encima del centro de la placa de soporte 1, cuya distancia a la placa de soporte puede ser modificada; y
- 6 son una instalación para la iluminación a través de la placa de soporte 1, así con detectores de luz para la medición de la luz que atraviesa la placa de soporte 1, comprendiendo la instalación 6 un motor 61 paso a paso;
- 11 es un motor, que puede accionar la placa de soporte rotativa; y
- 12 es un medidor del número de revoluciones.
- La invención se ilustra con más detalle por los siguientes ejemplos, pero sin estar limitado a ellos.

Ejemplos

Ejemplo 1

10 mg de quitosano de alta viscosidad (2-amino-2-desoxi-(1→4)-β-D-glucopirano) (Fluka Biochemika) se disuelven en 12 ml de agua destilada. A continuación, se añaden bajo agitación y a oscuras 0,5 mg de un HES 200/0,5 preparado según DeBelder y Granath, marcado con fluoresceíntioisocianato (FITC) con un DS para la fluoresceína de 0,02 disuelto en 1,5 ml de una solución de tampón fosfato 0,1 N, pH 7,5. Al cabo de 30 minutos se añaden 0,025 g de cianoborohidruro de sodio, NaBH₃CN (ACROS ORGANICS, New Jersey), la mezcla se agita y se deja 2 horas a oscuras a la temperatura ambiente. El reactivo se agita manualmente cada 30 minutos hasta que ya no ascienden más burbujitas. Como muy tarde, después de 120 minutos se añade nuevamente la misma cantidad de 0,025 g de cianoborohidruro de sodio y la mezcla se trata de igual manera. Se procede del mismo modo con una solución de control recién preparada, sin adición de cianoborohidruro de sodio.

Al cabo de 72 horas se dializan y liofilizan los dos reactivos. La mezcla que ha reaccionado con cianoborohidruro de sodio muestra una clara coloración amarilla de los gránulos de quitosano, mientras que los gránulos no tratados con cianoborohidruro de sodio no presentan ninguna coloración visible. Al iluminar con una lámpara de fluorescencia (longitud de onda 540 – 590 nm) se puede observar una coloración amarilla fluorescente. A continuación, los dos reactivos liofilizados se someten a un fuerte campo eléctrico de una carga negativa. La sustancia seca que no ha reaccionado con cianoborohidruro de sodio es atraída inmediatamente por el campo eléctrico. La sustancia que ha reaccionado conforme a la invención con cianoborohidruro de sodio no se presenta en forma cargada (policación) y, por lo tanto, no es influenciada por el campo eléctrico.

Ejemplo 2

10 mg de quitosano de alta viscosidad (2-amino-2-desoxi-(1→4)-β-D-glucopirano) (Fluka Biochemika) se disuelven en 10 ml de agua destilada. A continuación, se añaden bajo agitación y a oscuras 0,5 mg de un HES 200/0,5, preparado según DeBelder y Granath, marcado con (FITC) con un DS para fluoresceína de 0,02, disuelto en 1,5 ml de una solución de tampón fosfato 0,1 N, pH 7,5. Al cabo de 30 minutos se añaden 0,025 g de cianoborohidruro de sodio, NaBH₃CN (ACROS ORGANICS, New Jersey). La mezcla se agita y se deja 2 horas a oscuras a la temperatura ambiente. El reactivo se agita manualmente cada 30 minutos hasta que ya no ascienden más burbujitas. Como muy tarde, después de 120 minutos se añade nuevamente la misma cantidad de 0,025 g de cianoborohidruro de sodio y se procede de igual manera.

Ejemplo 3

2 g de quitosano de baja viscosidad (2-amino-2-desoxi-(1→4)-β-D-glucopirano) (Fluka Biochemika) se disuelven bajo agitación en 50 ml de ácido acético 2 N. La mezcla se deja reposar 36 horas hasta que ya no son visibles más burbujitas de aire. Un portaobjetos plano de vidrio se introduce en la centrífuga de láminas representada en la figura 1. La instalación de pipeta situada sobre el punto de giro de la centrífuga de láminas se llena con la solución de quitosano. La centrífuga se pone en rotación a 200 rpm y se carga negativamente con un generador. La instalación de pipeta se aproxima lentamente a la placa de soporte en rotación. Primero se depositan 200 µl de la solución de quitosano en el centro de la placa de soporte y por aumento del número de revoluciones se distribuye sobre la placa de soporte en forma de lámina. El radio de la estructura laminar en forma de círculo es captada por una lámpara e instalación de medición dispuestas sobre la centrífuga de láminas. El número de revoluciones de la centrífuga se va aumentando hasta que el radio de la lámina ya no aumenta más. La lámina se seca a 300 rpm durante 12 h.

La lámina se lava con agua empezando por el borde exterior de la lámina a un número de revoluciones de 150 rpm, hasta que la solución de lavado que gotea presente un pH neutro. A la placa de soporte se vierten 3 ml de tampón fosfato. 5 g de un HES-460 se disuelven completamente en 7 ml de agua y se vierten sobre la placa de soporte. Al cabo de 30 minutos se añaden 0,025 g cianoborohidruro de sodio, NaBH₃CN (ACROS ORGANICS, New Jersey). La mezcla se somete a una lenta rotación durante 30 minutos y durante 2 h se deja reposar a la temperatura ambiente. Después el reactivo se somete a rotación cada 30 minutos durante un espacio de tiempo de 10 minutos hasta que ya no ascienden más burbujitas. Lo más tarde, después de 120 minutos se añade nuevamente la misma cantidad de 0,025 g de cianoborohidruro de sodio y se trata de igual manera. Al cabo de 72 horas se separan por centrifugación los reactivos sobre la placa de soporte, el preparado se lava varias veces con tampón fosfato pH 7,5, se seca y se examina al microscopio electrónico. Se procede del mismo modo con una placa de soporte igualmente cargada, sin la adición de cianoborohidruro de sodio.

En la reacción con cianoborohidruro de sodio se puede observar, que la formación de burbujitas tiene lugar casi exclusivamente en la zona del borde de la muestra. La figura 3 muestra la lámina de quitosano del ejemplo 3, que se ha formado sin la adición de cianoborohidruro de sodio. La figura 4 muestra una lámina de quitosano después de haberse llevado a cabo el procedimiento conforme a la invención en el ejemplo 3. En la zona del borde del preparado se muestran claras modificaciones y ondulaciones que no se pueden observar en las zonas centrales de la lámina. La amplia limitación de esta modificación sobre la zona del borde de la lámina solo se pudo observar en el caso de una carga negativa de la placa de soporte. Estas observaciones muestran, que por la polarización eléctrica de la placa de soporte tuvo lugar una orientación de los grupos catiónicos de la molécula de quitosano hacia la placa y, por consiguiente, solo en la zona del borde estaba a disposición para la reacción conforme a la invención. Igualmente, una formación de burbujitas después de la adición de cianoborohidruro de sodio en el caso de carga negativa de la placa de soporte, solo pudo observarse en la zona del borde.

Ejemplo 4

5 g de quitina se suspenden bajo agitación en ácido acético 2 N. La mezcla se deja reposar hasta que no asciendan más burbujitas de aire y se pasan a un matraz de 3 bocas lavado con nitrógeno. A continuación se añaden lentamente 250 ml de NaOH 0,5 N. La mezcla se calienta durante 20 minutos a 95°C. El residuo se lava con un exceso de agua y se seca a 80°C.

El quitosano obtenido se disuelve bajo agitación en ácido acético 2N y con el dispositivo descrito en el ejemplo 3 se centrifuga a 300 rpm durante 12 h sobre una placa cargada positivamente de la centrífuga de láminas. A continuación, empezando por el borde se lava con agua a bajo número de revoluciones, hasta que la solución de lavado que gotea presente un pH neutro. La lámina sobre la placa de soporte se recoge en 3 ml de tampón fosfato (pH 7,5). 1 g de un HES 130/0,5 se disuelven en 5 ml de H₂O y se pipetea sobre la placa de soporte.

Al cabo de 30 minutos se añaden 0,025 mg de cianoborohidruro de sodio. La mezcla se somete durante 30 minutos a una lenta rotación y después se deja reposar 2 horas. Después, la placa de soporte se somete a lenta rotación durante 10 minutos hasta que ya no ascienden más burbujitas. Al cabo de 120 minutos se añaden nuevamente 0,025 mg de cianoborohidruro de sodio, y se procede de igual manera. Al cabo de 72 h se separa por centrifugación la solución sobrenadante y el preparado se lava varias veces con tampón fosfato y se seca.

La placa de soporte con el preparado obtenido se dispone en un recipiente de reacción con un embudo de goteo y un electrodo para pH y se recubre cuidadosamente con agua. Con lejía de sodio diluida se instala un valor del pH entre 8 y 8,5. Se añaden cuidadosamente 0,5 g de piridina y se agita cuidadosamente. Después se añaden primeramente 30 mg de dicloruro de ácido malónico y el recipiente de reacción se somete a una lenta rotación. A continuación, se añaden 50 mg de inositol. El recipiente de reacción se deja reposar a 60°C durante 2 h. Después se añaden nuevamente 30 mg de dicloruro de ácido malónico y después 50 mg de inositol y nuevamente se deja reposar a 60°C durante 2 h. Este proceso se repite aun dos veces más. La placa de soporte se lava después cuidadosamente con agua y se liofiliza.

REIVINDICACIONES

1. Producto de unión (I) de
 m moléculas de un polisacárido X con un polisacárido A, eligiéndose el polisacárido A del grupo de las quitinas o quitosanos,
- 5 m es un número entero entre 1 y 10.000, y
 la unión entre X y A es una unión amínica o amídica, **caracterizado porque** el polisacárido X está total o parcialmente sustituido, eligiéndose los sustituyentes del polisacárido X del grupo constituido por grupos hidroxietilo y grupos carboximetilo y siendo el polisacárido X almidón, amilosa y/o amilopectina.
- 10 2. Producto de unión conforme a la reivindicación 1, **caracterizado porque** el polisacárido X es un almidón hidroxietílico.
3. Producto de unión conforme a la reivindicación 2, **caracterizado porque**
- el peso molecular del almidón hidroxietílico se sitúa por debajo de 30.000, su grado de sustitución DS es menor o igual a 0,3 y m se sitúa preferentemente entre 15 y 50, ó
 - el peso molecular del almidón hidroxietílico se sitúa por debajo de 4.000, y m se sitúa preferentemente entre 100 y 200, ó
 - el peso molecular del almidón hidroxietílico se sitúa por debajo de 1.500, y m preferentemente entre 300 y 750.
- 15
4. Producto de unión según una o varias de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado porque** el polisacárido A es un quitosano con un grado de desacetilación en el intervalo de 90% a 40%, preferentemente de 75% a 60%.
- 20
5. Producto de unión según una o varias de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado porque** el producto de unión (I) está sustituido de modo que radicales de la fórmula (II) están unidos covalentemente a X
- $$\text{-Z1}_c\text{R1} \quad \text{(II)}$$
- y/o de modo que radicales de la fórmula (III) están unidos covalentemente a A
- $$\text{-Z2}_d\text{R2} \quad \text{(III)}$$
- 25
- en donde
- R1 es un radical molecular farmacéuticamente activo,
- R2 es un radical molecular farmacéuticamente activo, y
- R1 y R2 pueden ser iguales o diferentes, y
- 30 en donde
- Z1 es un enlazador que está unido covalentemente tanto a R1 como también a X,
- Z2 es un enlazador que está unido covalentemente tanto a R2 como también a A,
- c = 1 ó 0,
- d = 1 ó 0, y
- 35 en donde
- la relación molar del radical de la fórmula (II) a X es a,
- la relación molar del radical de la fórmula (III) a A es b,
- a es un número entero entre 0 y 1000,
- b es un número entero entre 0 y 1000, y
- 40 al menos a ó b son diferentes a cero.
6. Compuesto de unión conforme a la reivindicación 5, **caracterizado porque** los productos de partida para

los enlazadores Z1 y/o Z2 se seleccionan de radicales de hidrocarburos lineales o ramificados, saturados o insaturados, alifáticos o alicíclicos con 1 a 22, preferentemente 2 a 15, de modo particularmente preferido 3 a 8 átomos de carbono ; grupos arilo, aril-C₁-C₄-alquilo y aril-C₂-C₆-alqueno con 5 a 12, preferentemente 6 a 12, de modo particularmente preferido 6 átomos de carbono en el radical arilo, los cuales eventualmente pueden estar sustituidos con grupos C₁-C₆-alquilo y/o C₂-C₆-alcoxi; o grupos heteroarilo, heteroaril-C₁-C₄-alquilo y heteroaril-C₂-C₆-alqueno con 3 a 8 átomos de carbono en el radical heteroarilo y uno o dos heteroátomos seleccionados de N, O y S, los cuales pueden estar sustituidos con grupos C₁-C₆-alquilo y/o C₂-C₆-alcoxi, y

en donde los compuestos de partida para el enlazador Z1 contienen 2 a 20 grupos funcionales para la formación de los enlaces covalentes con R1 y X, y en donde los compuestos de partida para el enlazador Z2 contienen 2 a 20 grupos funcionales para la formación de los enlaces covalentes con R2 y A, seleccionándose los grupos funcionales respectivamente independientemente entre sí de

Hidroxilo (-OH),

Amino (-NH₂),

Carboxilo (-COOH),

15 Isocianato (-NCO),

Halogenuro de ácido carboxílico- (-C(O)Cl, -C(O)Br, y/o -C(O)I),

Carboxilalqueno- (-(CH₂)_q-COOH, con q = 1 a 10) ó

Grupos éster (-COOalq., siendo alq. un grupo alquilo con uno a siete átomos de carbono), en donde preferentemente

20 - R2 y/o R1 se seleccionan del grupo constituido por radicales de aminoácidos y radicales de péptidos, o

- R2 y/o R1 es un radical de proteína, o

- R2 y/o R1 se basa en un medicamento seleccionado del grupo constituido por agentes adelgazantes, inhibidores del apetito, terapéuticos de acidosis, aminoácidos o aminoácidos modificados, analépticos, antihipoxémicos, analgésicos, antireumáticos, antihelmínticos, antialérgicos, antianémicos, antiarrítmicos, antibióticos, antiinfecciosos, antidemencias, antidiabéticos, antidotos, antieméticos, antivertiginosos, antiepilépticos, antihemorrágicos, antihipertónicos, antihipoglucémicos, antihipotónicos, anticoagulantes, antimicóticos, agentes antiparasitarios, antiflogísticos, antitusivos, expectorantes, arterioescleróticos, para terapia de balneario y agentes para la terapia térmica, betareceptores, bloqueantes del canal del calcio e inhibidores del sistema renina-angiotensina, broncolíticos, antiasmáticos, colagogos y terapéuticos de las vías biliares, colinérgicos, corticoides, dermatológicos, dietéticos, terapéuticos de la alimentación, diagnósticos y agente preparativos de la diagnosis, diuréticos, agentes para fomentar la circulación, agentes antidependencia, inhibidores enzimáticos, preparados enzimáticos y proteínas de transporte, fibrinolíticos, geriátricos, agentes anti gota, agentes antigripales, ginecológicos, agentes antihemorroidales, hepáticos, hipnóticos, sedantes, hormonas del hipofisismo, hormonas del hipotálamo, péptidos reguladores y sus inhibidores, inmunoterapéuticos y citoquinas, soluciones para infusiones e inyecciones estándar, soluciones para la perfusión de órganos, cardíacos, agentes para caries y periodontitis y otros preparados dentales, agentes coronarios, laxantes, reductores de lípidos, terapéuticos neurológicos, agentes estómago-intestino, agentes contra migraña, preparados minerales, relajantes musculares, narcóticos, hormonas de la glándula paratiroidea, reguladores del metabolismo del calcio, agentes para osteoporosis, preparados para neuropatías y otros agentes neurotrópicos, neurotransmisores o neurotransmisores modificados, oftálmicos, otológicos, agentes para el Parkinson y otros agentes contra perturbaciones extrapiramidales, psicofármacos, agentes para sinusitis, roborantes, tónicos, terapéuticos de la glándula tiroidea, sueros, inmunoglobulinas y vacunas, hormonas sexuales y sus inhibidores, espasmolíticos, inhibidores de la agregación trombocitaria, agentes para la tuberculosis, agentes para cambio andrógeno, urológicos, terapéuticos venosos, vitaminas, agentes para tratamiento de heridas, citostáticos e inhibidores de metástasis.

7. Producto de unión conforme a una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado porque** un medicamento R3 está unido coordinativamente al productos de unión (I), siendo R3 preferentemente un ión metálico, de modo particularmente preferido hierro, potasio, magnesio, cinc, calcio, gadolinio y/o cobre.

50 8. Procedimiento para la preparación de un producto de unión conforma a una de las reivindicaciones 1 a 7, en donde

para el caso en que

(a) la unión es una unión amina, el procedimiento comprende los siguientes pasos:

- (i) reacción del polisacárido A con el polisacárido X bajo formación de una imina, e
- (ii) subsiguiente reducción de la imina a amina, o

para el caso, en que

(b) la unión es una unión amida, el procedimiento comprende los siguientes pasos:

- 5 (i') oxidación del grupo aldehído del polisacárido X , y
- (ii') subsiguiente reacción del producto de oxidación con el polisacárido A.

bajo la utilización de un dispositivo (10) que comprende una placa de soporte (1) cargable electrostáticamente, de un material aislante, **caracterizado porque** el procedimiento comprende los siguientes pasos:

- (α) aplicación de una solución o suspensión de quitosano o quitina A sobre la placa de soporte (1);
- 10 (β) carga electrostática de la placa de soporte (1) para formar un campo eléctrico;
- (γ) preparación de una lámina de quitosano , respectivamente quitina;
- (δ) reacción del quitosano o quitina A por puesta en contacto de la lámina de quitosano o de quitina con una solución o suspensión del polisacárido X a un valor del pH superior a 6,8 bajo la formación de una base de Schiff;
- 15 (ε) reducción de la base de Schiff por adición de un reductor, por lo que se obtiene el producto de unión (I), comprendiendo, además, el procedimiento preferentemente:
 - (ζ) la reacción del productos de unión (I) con R1 y opcionalmente Z1 y/o con R2 y opcionalmente Z2, por lo que se obtiene el producto de unión (I) sustituido con los radicales de la fórmula (II) y/o (III);
 - (η) la reacción opcional del producto de unión (I) sustituido al menos con radicales de la fórmula (II) bajo la escisión del enlace amina y/o enlace amida entre A y X, por lo que se obtiene el polisacárido X sustituido al menos con radicales de la fórmula (II),
- 20

comprendiendo, además, opcionalmente el dispositivo (10) una instalación de dosificación (4) o de pipeta, dispuesta por encima de la placa de soporte (1), cuya distancia a la placa de soporte (1) es opcionalmente ajustable de forma variable, y cuyo posición sobre la placa de soporte es modificable opcionalmente.

- 25 9. Procedimiento conforme a la reivindicación 8, **caracterizado porque** la placa de soporte es rotativa, por lo que el dispositivo (10) comprende, además, opcionalmente una instalación (3) para la creación de diferentes cargas y su medición sobre la superficie de la placa de soporte (1), comprendiendo la instalación (3) un cátodo, que está conectado eléctricamente de forma conductora con el centro de la placa de soporte (1) rotativa, así como un ánodo de forma anular sobre el círculo exterior de la superficie de la placa de soporte (1), estando conectados los
- 30 electrodos a un generador de corriente.

10. Procedimiento conforme a una de las reivindicaciones 8 y 9, comprendiendo, además, el dispositivo (10) una instalación (2) para la creación y medición de una carga electrostática de la superficie de la placa de soporte (1), la cual es capaz de cargar electrostáticamente de forma diferente el lado superior e inferior de la placa de soporte (1) rotativa.

- 35 11. Procedimiento conforme a una de las reivindicaciones 8 a 10, **caracterizado porque**
 - el dispositivo (10) comprende, además, al menos una instalación (6) para la iluminación a través de la placa de soporte (1), así con detectores de luz para la medición de la luz que atraviesa la placa de soporte 1, una instalación para la iluminación de la superficie de la placa de soporte (1), así con detectores de luz para la
 - 40 medición de la luz reflejada por la placa de soporte (1) y/o una instalación para la magnetización de las láminas formadas sobre el lado superior de la placa de soporte (1), así como para la medición de los campos magnéticos sobre el lado superior de la placa de soporte (1), y/o
 - en o sobre la superficie de la placa de soporte (1) se han dispuesto electrodos, adecuados para cargar la placa de soporte (1) electrostáticamente con polaridad variable y con distribución de cargas, y/o
 - sobre el centro de la placa de soporte (1) se ha dispuesto, a una distancia arbitraria, un electrodo (9).

- 45 12. Procedimiento conforme a una de las reivindicaciones 8 a 11, **caracterizado porque** en un paso antepuesto al paso (i) ó (i') el polisacárido X forma asociaciones moleculares acopladas paralelamente, con macromoléculas, preferentemente con kapa-carragenina, glucoproteínas o macromoléculas de membranas

celulares, no presentando las macromoléculas grupos funcionales algunos que, bajo las condiciones de reacción de los siguientes pasos, los capacite para una reacción con el polisacárido X y/o el polisacárido A bajo la formación de una unión covalente.

- 5 13. Procedimiento conforme a una de las reivindicaciones 8 a 12, **caracterizado porque** los productos de reacción, las sustancias de partida y los productos intermedios se pueden separar entre sí por electroforesis y/o cromatografía de penetración en gel, y se pueden purificar de forma correspondiente a su movilidad electroforética y/o a su volumen hidrodinámico y, opcionalmente, porque después de la sustitución de X con un radical de la fórmula (II), X y A se pueden separar entre sí en un siguiente paso (v).
- 10 14. Composición farmacéutica, que comprende el producto de unión conforme a una de las reivindicaciones 1 a 7.
- 15 15. Utilización del producto de unión conforme a una de las reivindicaciones 1 a 7 como material biocompatible, preferentemente en implantes o como tales, como vasos sanguíneos sintéticos, implantes de vasos, válvulas cardiacas sintéticas, válvulas cardiacas mitrales, repuestos de venas y ligamentos, repuestos de cartílagos, parches para cerrar aberturas no deseadas en intervenciones quirúrgicas y apósitos para heridas; en coadyuvantes quirúrgicos o como tales, como instrumental quirúrgico, artículos de un solo uso que se emplean intracorporalmente solo un breve tiempo, catéteres, tubos para catéter, material de sutura, material de sutura biodegradable, jeringuillas, tubos extracorporales para sangre, bolsas para sangre o bolsas para soluciones para aplicaciones intravenosas o láminas en forma de bolsas; o en componentes en instrumental quirúrgico o como tales, como partes de máquinas o
 20 filtros para corazón, pulmones y diálisis, tubos para infusiones, bombas peristálticas y membranas para diálisis o como material para lentes de contacto, como aditivo a cosméticos para acondicionadores del cabello, cremas humectantes o laca de uñas, para la inmovilización de células y enzimas, como soporte para cromatografía de afinidad y para la separación de proteínas, para sistemas terapéuticos controlados, para sistemas para la liberación preestablecida de principios activos o para el empleo en tecnologías para cultivos tisulares in vitro.

Fig. 1

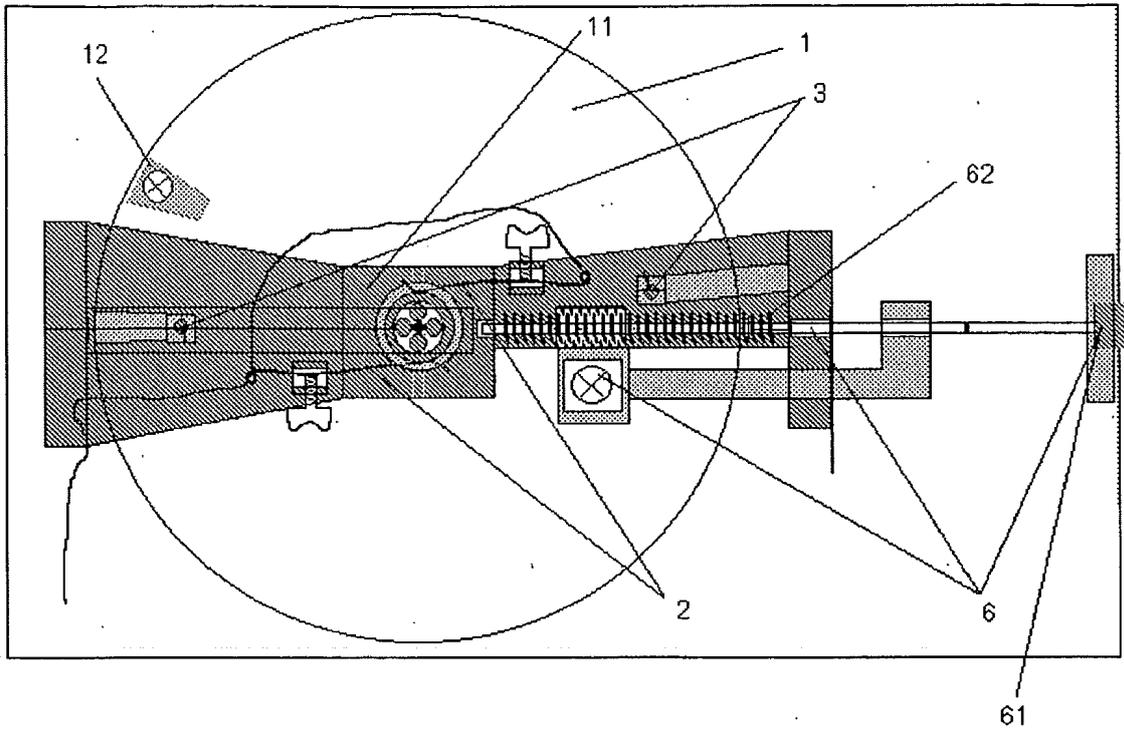


Fig. 2

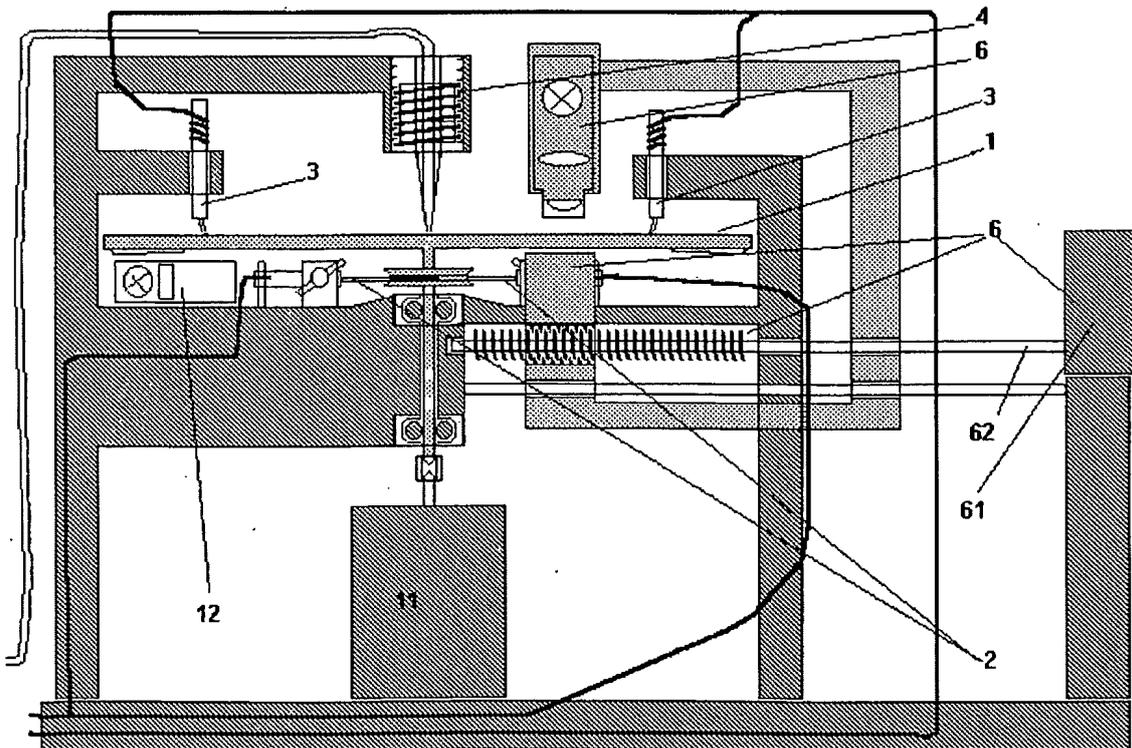


Fig. 3

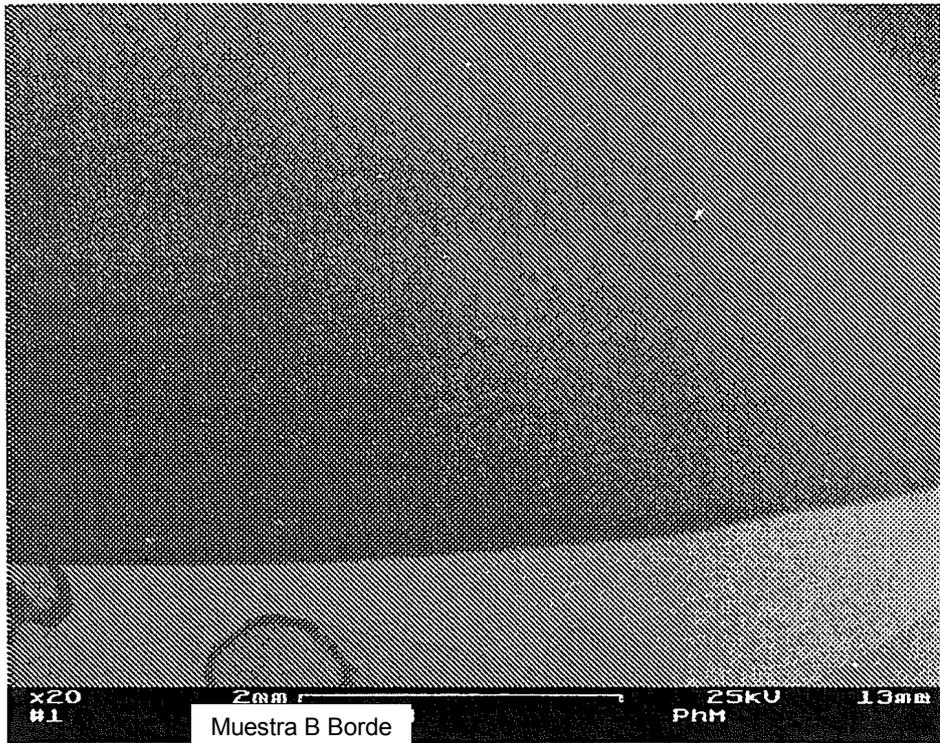


Fig. 4

