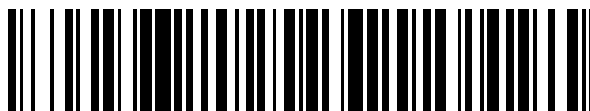


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 620 456**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 8/73</b>	(2006.01)
<b>A61Q 19/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/715</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/722</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/726</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/728</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/737</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/738</b>	(2006.01)
<b>C08B 37/00</b>	(2006.01)
<b>C08B 37/08</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.12.2008 PCT/EP2008/010534**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **02.07.2009 WO09080220**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2008 E 08865553 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.03.2017 EP 2222712**

54 Título: **Derivados polisacáridos de ácido lipoico, su preparación, uso como productos cosméticos para la piel y dispositivos médicosmédicos**

30 Prioridad:

**21.12.2007 IT MI20072416**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**28.06.2017**

73 Titular/es:

**SIGEA S.R.L. (100.0%)  
AREA SCIENCE PARK PADRICIANO 99  
34012 TRIESTE, IT**

72 Inventor/es:

**PICOTTI, FABRIZIO;  
BOSCO, MARCO;  
STUCCHI, LUCA y  
FABBIAN, MATTEO**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

**Observaciones :**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 620 456 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

Derivados polisacáridos de ácido lipoico, su preparación, uso como productos cosméticos para la piel y dispositivos médicos

Resumen de la invención

- 5 La presente invención describe derivados novedosos de polisacáridos que contienen residuos de glucosamina o galactosamina en la unidad repetitiva, caracterizados por la presencia de ésteres en los grupos hidroxilo o amidas en las funciones amina, con ácido lipoico o con mezclas de ácido lipoico y ácido fórmico, su preparación por un método de síntesis original en el que el éster de formiato, si lo hay, se origina a partir de formamida, y su purificación y uso como sustancias protectoras de la piel.
- 10 Estado del arte
- El ácido lipoico (o ácido tióctico) es una molécula natural, aislada en hígados de mamíferos, que actúa como un cofactor esencial para muchas reacciones enzimáticas, incluyendo la conversión de piruvato en Acetil-CoA en el ciclo de Krebs. El ácido lipoico es un potente antioxidante que evita los síntomas de deficiencia de vitamina C y vitamina E, y también un potente limpiador de especies reactivas, es decir, radicales libres como hidroperóxidos, superóxidos, peroxinitritos, etc.
- 15 Se conocen ésteres de algunos polisacáridos, tales como celulosa con ácido lipoico; ésteres de ácido lipoico con polímeros sintéticos (PEG); ésteres o amidas de ácido lipoico con moléculas pequeñas y formulaciones basadas en mezclas físicas de ácido lipoico o derivados de las mismas con ácido hialurónico (AH) (y derivados de los mismos) o con sulfato de condroitina (SC).
- 20 Se han descrito materiales basados en celulosa microcristalina que forma derivados con ácido lipoico por esterificación en condiciones homogéneas en dimetilacetamida (DMAc)/LiCl con carbonildiimidazol (CDI) a la temperatura de 60°C (Polymer Bulletin, 57, 2006, pp. 857-863). Los productos obtenidos tienden a formar quelatos con los átomos de oro, y por lo tanto son adecuados para recubrir hojas de oro para producir soportes para biomineralización, el crecimiento de los cristales y la inmovilización de las enzimas. Se reportan ésteres de celulosa con ácido lipoico que tienen un grado máximo de sustitución (GS) de 1,45, y son insolubles en disolventes comunes con un GS de 0,50.
- 25 Se han descrito el dextrano y la beta-ciclodextrina que forma derivados con ácido lipoico por esterificación en condiciones homogéneas en DMSO con CDI a la temperatura de 80 °C (reacción en un solo recipiente) (Polymer Bulletin, 59, 2007, pp 65-71). Se han descrito ésteres de dextrano con ácido lipoico que tienen un GS máximo de 0,44, y ésteres de beta-ciclodextrina con ácido lipoico que tienen un GS máximo de 1,99, ambos insolubles en disolventes comunes. Dichos materiales están diseñados para producir revestimientos superficiales para sistemas capaces de interactuar con moléculas biológicas u orgánicas.
- 30 Se ha descrito la celulosa microcristalina que forma derivados con ácido lipoico por esterificación en condiciones homogéneas en DMAc/LiCl con diciclohexilcarbodiimida (DCC) y dimetilamino-piridina (DMAP) a la temperatura de 40 °C (Macromolecular Bioscience, 7, 2007, DOI: 10.1002/Mabi, 200700110). Los productos obtenidos demuestran actividad antioxidante de uso potencial en la fabricación de membranas compatibles con la sangre para uso en el proceso de hemodiálisis (industria química y biomédica), y tienen un GS máximo de 0,58. Dichos productos poliméricos muestran un aumento en la estabilidad metabólica y una disminución en la tasa de degradación de la molécula antioxidante unida a ellos. Se requiere que dichos polímeros tengan un peso molecular suficientemente alto para asegurar que no atraviesen la barrera hematoencefálica y dañen las membranas celulares.
- 35 El documento WO 2007/105854 describe la síntesis de ésteres solubles en agua de ácido lipoico con polietilenglicol (PEG con varios pesos moleculares) para uso como antioxidante, agente blanqueador y producto antienviejecimiento en aplicaciones tópicas externas; describe un proceso de derivación de ácido lipoico por EDCI (1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carboimida) y DMAP.
- 40 El documento WO 02/076935 describe derivados novedosos de ácido lipoico obtenidos por medio de un enlace amida de ácido lipoico a aminoácidos. Dichos productos muestran actividad biológica.
- 45 El documento US 6.365.623 describe una formulación tópica para el tratamiento del acné a base de ácido lipoico y sus derivados de éster y amida. El AH se menciona como un aditivo adicional en la formulación.
- 50 El documento WO 2006/128618 describe nuevas formulaciones basadas en ácido lipoico y en AH o derivados de los mismos para uso en los campos farmacéutico y cosmético, debido a su efecto de regeneración de piel dañada, prevención del envejecimiento de la piel y reparación de úlceras crónicas. Dichas formulaciones se pueden administrar por vía tópica o sistémica (por vía oral, por inyección, etc.).
- El documento WO 2005/041999 describe formulaciones novedosas para suplementos dietéticos diseñados para mejorar las funciones de las articulaciones, reducir la inflamación y reparar el cartilago. Los diversos componentes posibles mencionados incluyen sulfato de condroitina y ácido lipoico.

Sin embargo, en la bibliografía no se dan ejemplos de ácido lipoico unido covalentemente a través de un enlace éster o amida a glicosaminoglicanos o quitosano.

#### Descripción de la invención

5 La presente invención describe derivados novedosos de polisacáridos que contienen residuos de glucosamina o galactosamina en la unidad repetitiva parcialmente esterificada o amidada con ácido lipoico o simultáneamente con ácido lipoico y ácido fórmico.

10 El grado de sustitución (GS) de los ésteres lipoicos en los hidroxilos de cada monómero de polisacárido oscila entre 0,01 y 0,5\*N en el caso de ésteres y entre 0,01 y 1 para amidas, donde N es el número de grupos alcoholes libres presentes en la unidad repetitiva, mientras que el grado de esterificación del ácido fórmico en los grupos hidroxilo poliméricos, cuando está presente, está entre 0,01 y 0,2 (es decir, entre 1% y 20%). Los polisacáridos derivados de acuerdo con la invención son glicosaminoglicanos (ácido hialurónico, sulfato de condroitina, sulfato de dermatán, sulfato de heparán y sulfato de queratano) y quitosano; en este último caso, el enlace entre polímero y ácido lipoico es un enlace amida, e involucra el grupo amina en la posición 2 del residuo de glucosamina.

La función carboxilo de los derivados de polisacáridos puede ser salificada con metales alcalinos, en particular sodio.

15 El derivado de ácido hialurónico tendrá preferiblemente un grado de esterificación del ácido lipoico en los grupos hidroxilo del polímero que oscila entre 0,01 y 0,8, mientras que el grado de esterificación del ácido fórmico en los grupos hidroxilo del polímero está entre 0 y 0,20 y el grado de degradación está entre 0,001 y 0,1, con respecto a los grupos éster entre dos cadenas diferentes de ácido hialurónico.

20 El grado de esterificación o amidación se puede modular de acuerdo con las características del polisacárido de partida y las condiciones de reacción utilizadas, tales como las relaciones estequiométricas entre el sustrato de polisacárido y el ácido lipoico activado, el tipo y cantidad de base catalítica utilizada y la temperatura de reacción. Por ejemplo, en el caso de los derivados lipoicos de ácido hialurónico, cambiando las condiciones de síntesis, es posible obtener polímeros de cadena lineal solubles o hidrogeles entrecruzadas que contienen, además de ésteres lipoicos, ésteres entre los grupos hidroxilo de una cadena y los grupos carboxilo de la unidad de ácido glucurónico perteneciente a una cadena diferente. Este último enlace constituye el puente de degradación. Los hidrogeles adquieren propiedades viscoelásticas significativas, que han sido estudiadas desde el punto de vista reológico y se describen a continuación.

25 Los derivados de cadena lineal (no entrecruzada) de acuerdo con la invención se pueden usar en composiciones tópicas con una acción hidratante, elastificante, tonificante, antienvjecimiento o antiacné o como adyuvantes para el tratamiento de lesiones cutáneas tales como inflamaciones, úlceras, heridas, dermatitis, y la hipertermia de la piel causada por la radiación. La concentración de polisacáridos puede estar entre 0,05% y 5% en peso de la composición. Ejemplos de formulaciones adecuadas incluyen cremas, ungüentos, geles, líquidos hidrófilos, lociones acuosas o lociones agua-alcohol, emulsiones aceite/agua o agua/aceite.

30 Los derivados entrecruzados, en forma de hidrogel, se pueden introducir en jeringas estériles y usarse como dispositivos médicos para uso intraarticular como agentes de viscosuplementación y rellenos de piel en cirugía cosmética. Los dispositivos médicos de acuerdo con la invención contendrán un hidrogel de lipoato de ácido hialurónico hinchado en solución salina estéril, a una concentración de polímero entre 0,5% y 3% en peso/volumen.

La invención se refiere también al procedimiento para su preparación, que comprende:

- a. La disolución del polisacárido seleccionado en forma de una sal de metal alcalino (generalmente sodio), o en forma clorada en el caso del quitosano, en un disolvente orgánico, en particular formamida (FA);
- 40 b. La activación de ácido lipoico a través de carbonildiimidazol solubilizado en un disolvente orgánico tal como dimetilacetamida (DMA), FA, DMF, DMSO, etc., en particular DMA, obteniéndose así lipoilimidazolida;
- c. La adición a la solución polimérica de un catalizador básico, preferiblemente dimetilaminopiridina (DMAP) o trietilamina, y de la solución que contiene lipoilimidazolida, en las cantidades elegidas; en la síntesis de lipoato de ácido hialurónico autoentrecruzado se evita el catalizador básico y se utiliza un exceso de carbonildiimidazol.
- 45 d. La reacción a una temperatura controlada (normalmente temperatura ambiente) durante tiempos definidos, seguido por la dilución de la mezcla de reacción con una solución estabilizada a un pH fisiológico;
- e. La purificación de los productos finales por precipitación, diálisis o filtración tangencial;
- f. La recuperación del producto por filtración, liofilización o secado por aspersion.

50 La base es una base orgánica aromática o alifática que comprende un átomo de nitrógeno trisustituido, preferiblemente dimetilaminopiridina, 4-pirrolidina-piridina o trietilamina. La temperatura de solubilización del polisacárido en formamida es típicamente entre 60 °C y 120 °C, y preferiblemente 95 °C.

En el caso del ácido hialurónico entrecruzado, el procedimiento comprende las siguientes etapas:

- a) disolver el ácido hialurónico salificado con sodio u otros metales alcalinos en formamida, mediante calentamiento;
- b) añadir a la solución resultante, ácido lipoico preactivado con carbonildiimidazol, a temperatura ambiente;
- c) hacer reaccionar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante entre 4 y 24 horas;
- d) diluir la mezcla de reacción con una solución acuosa estabilizadora y neutralizarla a un pH de 6-7,5;
- 5 e) purificar la mezcla de reacción diluida por diálisis;
- f) congelar la solución acuosa de polisacárido purificada y recuperar el producto por liofilización.

El éster formiato, cuando está presente, se origina en el proceso según la invención por hidrólisis de formamida bajo las condiciones experimentales utilizadas.

10 Los siguientes ejemplos describen en detalle la síntesis de algunos derivados de polisacáridos de ácido lipoico de acuerdo con esta invención.

#### Ejemplos

15 Los ensayos de RMN <sup>1</sup>H se llevan a cabo en D<sub>2</sub>O o DMSO-d<sub>6</sub> con un espectrómetro Bruker Avance 400 equipado con una sonda multinuclear de 5 mm con un gradiente de z, a 300 K. Los ensayos incluyen Espectroscopía Ordenada de Difusión (DOSY); estos últimos experimentos demuestran la existencia de un enlace covalente entre el polímero y el ácido lipoico. La cuantificación de los residuos de ácido lipoico esterificado (grado de sustitución, GS) se realiza después de hidrólisis exhaustiva con NaOD directamente en el tubo de RMN. El espectro <sup>1</sup>H del hidrolizado permite integrar las señales atribuibles al ácido lipoico y las atribuibles al polisacárido; su relación proporciona el GS. De forma similar, el GS se evalúa en ésteres de formiato, cuando están presentes.

#### Ejemplo 1. Síntesis de éster lipoico de ácido hialurónico

20 Se solubilizan 1,50 gramos de sal de sodio de AH en 30 ml de formamida (5,0% p/v) a 95 °C durante 2 horas; la temperatura se reduce entonces a 25 °C, y se añaden 911 mg de DMAP a la solución. 770 mg de ácido lipoico se solubilizan por separado en 2,0 ml de DMA y se hacen reaccionar con 604 mg de CDI durante 30 minutos a 25 °C. La solución resultante que contiene el lipoilimidazolido se deja caer en la solución de AH, DMAP y formamida y la reacción  
 25 procede bajo agitación mecánica durante 20 horas a 25 °C. A continuación se añaden 300 ml de agua que contiene un regulador de fosfato (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), 0,25M a un pH de 6, y se realiza la purificación por diálisis. A continuación, la solución acuosa se congela y se liofiliza. Se recuperan 1,48 g de liofilizado.

Se disuelven 10 mg de muestra en 0,7 ml de D<sub>2</sub>O y se transfieren a un tubo de RMN.

La Figura 1 muestra los espectros de RMN de <sup>1</sup>H del éster lipoico del ácido hialurónico antes (en la parte inferior) y después de la hidrólisis (superior) de los ésteres al añadir NaOD.

30 El espectro inferior se obtiene aplicando una secuencia DOSY que sólo retiene las señales atribuibles a grupos químicos unidos covalentemente al polímero.

Se obtiene un valor de GS de 0,50 a partir de la integración de las señales de metileno asociadas con ácido lipoico (Figura 1); el GS en formiato equivale a 0,02.

#### Ejemplo 2. Síntesis de éster lipoico de ácido hialurónico sin el uso de un catalizador

35 Se solubilizan 125 mg de sal de sodio de AH en 5 ml de formamida (2,5% p/v) a 95 °C durante 2 horas; la temperatura se reduce entonces a 25 °C. Se solubilizan 192 mg de ácido lipoico por separado en 1 ml de DMA y se hacen reaccionar con 151 mg de CDI durante 30 minutos a 25 °C. La solución resultante que contiene el lipoilimidazolido se deja caer en la solución de AH y formamida y la reacción procede bajo agitación durante 20 horas a 25 °C. La muestra se recupera por precipitación en acetona. Después de dos lavados en acetona y secado al vacío, se recuperan 112 mg  
 40 de muestra.

Se disuelven 10 mg de muestra en 0,7 ml de DMSO-d<sub>6</sub> acidificado con TFA mientras está caliente y se transfieren al tubo de RMN. Se obtiene un valor de GS de 0,25 a partir de la integración de las señales de metileno asociadas con el ácido lipoico.

#### Ejemplo 3. Síntesis de éster lipoico de ácido hialurónico purificado por ultrafiltración

45 Se solubilizan 250 mg de sal de sodio de AH en 5 ml de formamida (5,0% p/v) a 95 °C durante 2 horas; la temperatura se reduce entonces a 25 °C, y se añaden 152 mg de DMAP a la solución. Se solubilizan 128 mg de ácido lipoico por separado en 0,6 ml de DMA y se hacen reaccionar con 101 mg de CDI durante 30 minutos a 25 °C. La solución resultante que contiene el lipoilimidazolido se deja caer en la solución de AH, DMAP y formamida y la reacción continúa bajo agitación durante 20 horas a 25 °C. La muestra se recupera por ultrafiltración. Se congelan 225 mg de muestra y  
 50 se recuperan por liofilización.

Se disuelven 10 mg de muestra en 0,7 ml de D<sub>2</sub>O y se transfieren a un tubo de RMN. Se obtiene un valor de GS de 0,47 a partir de la integración de las señales de metileno asociadas con ácido lipoico; El GS en los residuos de formiato equivale a 0,04.

Ejemplo 4. Síntesis de éster lipoico de ácido hialurónico de cadena lineal con un alto grado de sustitución

5 Se solubilizan 250 mg de sal de sodio de AH en 5 ml de formamida (5,0% p/v) a 95 °C durante 2 horas; la temperatura se reduce entonces a 25 °C y se añaden 228 mg de DMAP a la solución. Se solubilizan 385 mg de ácido lipoico por separado en 1,5 ml de DMA, y se hacen reaccionar con 302 mg de CDI durante 30 minutos a 25 °C. La solución resultante que contiene el lipoilimidazolido se deja caer en la solución de AH, DMAP y formamida y la reacción continúa bajo agitación durante 20 horas a 25°C. La muestra se recupera por precipitación en acetona. Después de dos lavados  
10 en acetona y secado bajo vacío, se recuperan 220 mg de muestra.

Se disuelven 10 mg de muestra en 0,7 ml de DMSO-d<sub>6</sub> acidificado mientras se calienta con TFA, y se transfiere a un tubo de RMN. Se obtiene un valor de GS de 1,8 a partir de la integración de las señales de metileno asociadas con ácido lipoico; el GS en los residuos de formiato equivale a 0,07.

Ejemplo 5. Síntesis de éster lipoico de ácido hialurónico entrecruzado

15 Se solubilizan 500 mg de sal de sodio de AH en 10 ml de formamida (5,0% p/v) a 95 °C durante 2 horas; la temperatura se reduce entonces a 25 °C. Se solubilizan 180 mg de ácido lipoico por separado en 1 ml de DMA y se hacen reaccionar con 202 mg de CDI durante 30 minutos a 25 °C. La solución resultante que contiene el lipoilimidazolido se deja caer en la solución de AH en formamida y la reacción prosigue bajo agitación mecánica durante 20 horas a 25°C. Después  
20 se añaden 30 ml de agua, se ajusta el pH a 6,5 con KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> sólido y se realiza la purificación por diálisis. A continuación, la solución acuosa se congela y se liofiliza. Se recuperan 490 mg de liofilizado entrecruzado, como se demuestra por los estudios reológicos ilustrados en las figuras 2 y 3.

Se disuelven 10 mg de muestra en 0,7 ml de D<sub>2</sub>O, a un pH de 11, y se transfieren a un tubo de RMN. Se obtiene un valor de GS de 0,10 a partir de la integración de las señales de metileno asociadas con ácido lipoico; el GS en los residuos de formiato equivale a 0,02.

25 Ejemplo 6. Síntesis de éster lipoico de sulfato de condroitina

Se solubilizan 1,0 gramos de sal de sodio de SC en 5 ml de formamida (20% p/v) a 80 °C durante 20 minutos; la temperatura se reduce entonces a 25 °C y se añaden 488 mg de DMAP a la solución. Se solubilizan 412 mg de ácido lipoico por separado en 1,0 ml de DMA y se hacen reaccionar con 324 mg de CDI durante 30 minutos a 25 °C. La  
30 solución resultante que contiene el lipoilimidazolido se deja caer en la solución de SC, DMAP y formamida y la reacción prosigue bajo agitación mecánica durante 20 horas a 25 °C. Después se añaden 20 ml de agua, se ajusta el pH a 7 con HCl 0,5M sólido y se realiza la purificación por ultrafiltración. A continuación, la solución acuosa se congela y se liofiliza. Se recuperan 850 mg de liofilizado.

Se disuelven 10 mg de muestra en 0,7 ml de D<sub>2</sub>O y se transfieren a un tubo de RMN. Se obtiene un valor de GS de 0,70 a partir de la integración de las señales de metileno asociadas con ácido lipoico; El GS en los residuos de formiato  
35 equivale a 0,02.

Ejemplo 7. Síntesis de amida de quitosano lipoica

Se solubilizaron 200 mg de clorhidrato de quitosano liofilizado (obtenido solubilizando las escamas de quitosano en agua acidificada con ácido clorhídrico a un pH de 3 y luego liofilizando la solución) en 4 ml de formamida (5,0% p/v) a  
40 95 °C durante 10 minutos. Se solubilizaron 104 mg de ácido lipoico por separado en 0,5 ml de DMA y se hicieron reaccionar con 82 mg de CDI durante 30 minutos a 25 °C. La solución resultante que contiene el lipoilimidazolido se deja caer en la solución de quitosano y formamida y la reacción prosigue bajo agitación mecánica durante 20 horas a 25 °C. Después se añaden 20 ml de agua, se ajusta el pH a 7 con HCl 0,5M y se purifica por diálisis. A continuación, la solución acuosa se congela y se liofiliza. Se recuperan 171 mg de liofilizado.

Se disuelven 10 mg de muestra en 0,7 ml de D<sub>2</sub>O acidificado con ácido trifluoroacético y se transfiere a un tubo de  
45 RMN. Se obtiene un valor de GS de 0,23 a partir de la integración de las señales de metileno asociadas con ácido lipoico; El GS en los residuos de formiato equivale a 0,03.

Ejemplo 8. Preparación de una crema elastificante O/W

A continuación se expone un ejemplo no limitativo de la invención, que ilustra la preparación de una formulación de crema que contiene uno de los ésteres de ácido lipoico de acuerdo con la invención.

50 La formulación de crema O/W contiene el compuesto descrito en el ejemplo 1 como agente funcional, a la concentración de 0,1%, adecuadamente mezclado con excipientes comunes usados en cosméticos para la piel, tales como emulsionantes, espesantes, aceites, humectantes, gelificantes, conservantes, etc.

5 En resumen, el procedimiento es el siguiente: se cargan aproximadamente 600 ml de agua desmineralizada (correspondiente a aproximadamente 60% en peso de la formulación total) en un turboemulsificador, y la fase grasa profundida se añade bajo agitación a aproximadamente 70 °C. La mezcla se emulsiona y se enfría lentamente a la temperatura de 35-40 °C. A esta temperatura se añaden los componentes termolábiles y volátiles, seguidos por el éster lipoico de AH de sal de sodio descrito en el ejemplo 1, disuelto en una cantidad adecuada de agua. La mezcla se deja bajo agitación lenta hasta alcanzar la temperatura de 25-30 °C, y el producto acabado se descarga a continuación en un recipiente adecuado.

El resultado es una crema con la siguiente composición (% P/P):

	Éster lipoico de AH de sodio (Ejemplo 1)	0,1
10	Aceites (glicéridos -triglicéridos palmíticos/caprílicos)	12
	Emulsionantes no iónicos	6
	Alcohol cetílico	2
	Dimeticona	4
	Silicato de MgAl	2
15	Glicerina	3
	Xilitol	2
	Parabenos	0,7
	H <sub>2</sub> O	q.s. a 100

20 Ejemplo 9. Preparación de un dispositivo médico en forma de una jeringa que contiene 1,5 ml de un hidrogel que contiene 2% p/p de lipoato de AH entrecruzado obtenido como se describe en el ejemplo 5

25 Se pesan 30 mg de polímero esterificado autoentrecruzado en forma de liofilizado, obtenido como se ha descrito en el ejemplo 5, en una jeringa estéril de 2,0 ml; la jeringa se llena con 1,47 g de una solución acuosa de NaCl al 0,9% (p/V). Todos los procedimientos experimentales se realizan bajo una campana de flujo laminar usando materiales libres de endotoxinas; la solución salina antes mencionada se prepara también con agua para uso inyectable. Se deja que el polímero se hinche durante 24 horas a temperatura ambiente. La jeringa se esteriliza a continuación con vapor de agua según un ciclo estándar a 121 °C durante 16 minutos en el autoclave.

Estudio reológico del ácido hialurónico esterificado con ácido lipoico y autoentrecruzado

30 Se realizó un estudio reológico comparativo sobre dos muestras de éster lipoico de ácido hialurónico obtenidas en diferentes condiciones experimentales: la primera, descrita en el ejemplo 1, se solubilizó en agua para proporcionar una solución viscosa, mientras que la segunda, descrita en el ejemplo 5, proporcionó una dispersión por microgel. Se utilizó como referencia una solución comercial de ácido hialurónico con un peso molecular de Mw=300 kDa, empleado para las dos síntesis. Los tres sistemas contenían la misma concentración de peso del polímero (2%) y se prepararon con la misma solución salina (NaCl al 0,3% p/p, regulador de acetato 20 mM a un pH=5,5).

35 Las mediciones reológicas se llevaron a cabo con un reómetro rotacional Rheostress Haake RS150 de esfuerzo controlado capaz de ejercer tanto tensiones sinusoidales como lineales en la muestra; al mismo tiempo se midió el índice de deformación de la muestra. El reómetro se equipó con placas planas lisas o moleteadas. Las medidas se termostataron a 25 °C.

Las curvas de flujo que miden la viscosidad en la variación de la tensión aplicada se registraron en las tres muestras comparadas (Figura 2).

40 La viscosidad de los tres sistemas con baja tensión difiere en varios órdenes de magnitud y las curvas de flujo cambian drásticamente de un perfil típico de un líquido viscoso (AH comercial) al de un sólido elástico (lipoato de AH y AH entrecruzado).

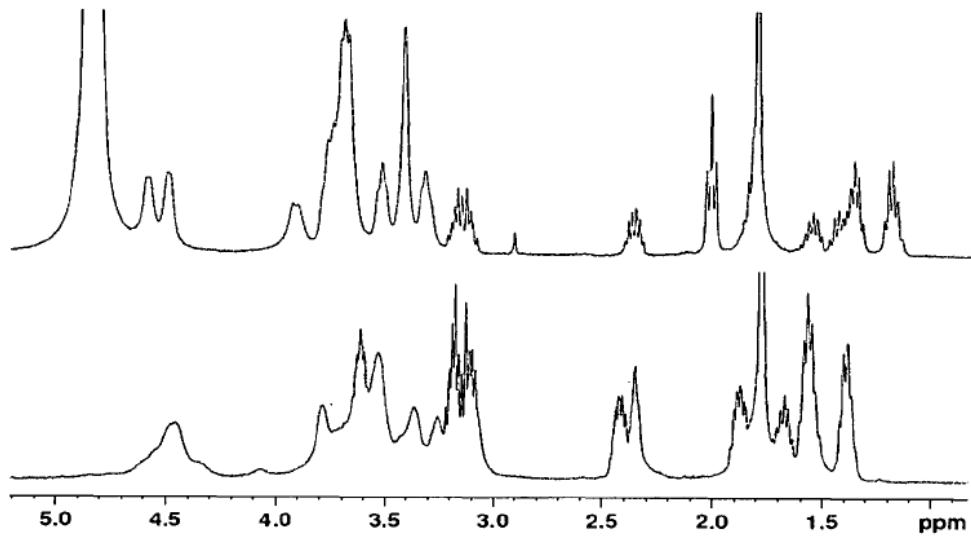
45 La figura 3 muestra los espectros mecánicos de los tres sistemas diferentes. En el comportamiento típico de una solución, el módulo viscoso (G'') es mayor que el módulo elástico (G') a bajas frecuencias, mientras que a medida que aumenta la frecuencia de oscilación, los dos módulos tienden a cruzarse. Este comportamiento es observado para la solución de éster de lipoato de cadena lineal (Ejemplo 1). En el perfil típico de un gel, el módulo de elasticidad prevalece sobre el módulo viscoso a lo largo del intervalo de frecuencias de oscilación y es prácticamente constante. Esta tendencia se observa en la dispersión de microgel preparada de acuerdo con el Ejemplo 5.

Reivindicaciones

1. Polisacáridos que contienen residuos de glucosamina o galactosamina en la unidad repetitiva, caracterizados por la presencia de ésteres en los hidroxilos, o amidas en las funciones aminas, con ácido lipoico o con mezclas de ácido lipoico y ácido fórmico.
- 5 2. Polisacáridos ácidos como se reivindica en la reivindicación 1, en los que el polisacárido es un glicosaminoglicano.
3. Polisacáridos ácidos como se reivindica en la reivindicación 2, en los que el glicosaminoglicano se selecciona entre ácido hialurónico, sulfato de condroitina, sulfato de dermatano, sulfato de heparán y sulfato de queratano.
4. Polisacáridos ácidos como se reivindica en las reivindicaciones 1-3, en los que la función carboxilo está presente en forma ácida o salificada con metales alcalinos.
- 10 5. Polisacáridos como se reivindica en la reivindicación 1, en los que el polisacárido es quitosano.
6. Polisacáridos como se reivindica en la reivindicación 2, caracterizados porque el grado de esterificación del ácido lipoico en los hidroxilos del polímero está comprendido entre 0,01 y 0,5\*N, donde N es el número de grupos de alcoholes libres presentes en la unidad repetitiva, mientras que el grado de esterificación del ácido fórmico en los hidroxilos del polímero está entre 0 y 0,20.
- 15 7. Polisacáridos como se reivindica en la reivindicación 5, caracterizados porque el grado de amidación del ácido lipoico en el grupo amina del quitosano está entre 0,01 y 1, mientras que el grado de esterificación del ácido fórmico en los hidroxilos del quitosano está entre 0 y 0,20.
8. Polisacáridos como se reivindica en la reivindicación 6, en los que el polisacárido ácido es ácido hialurónico y el grado de esterificación del ácido lipoico en los hidroxilos del polímero está entre 0,01 y 0,8, mientras que el grado de esterificación del ácido fórmico sobre los hidroxilos del polímero está entre 0 y 0,20.
- 20 9. Polisacáridos como se reivindica en la reivindicación 1, en los que el polisacárido ácido es ácido hialurónico, y el grado de esterificación del ácido lipoico en los hidroxilos del polímero está entre 0,01 y 0,8, el grado de esterificación del ácido fórmico sobre los hidroxilos del polímero está entre 0 y 0,20, y el grado de degradación está entre 0,001 y 0,1, con respecto a los grupos éster entre dos cadenas diferentes de ácido hialurónico.
- 25 10. Procedimiento de preparación de los polisacáridos reivindicados en las reivindicaciones 1 a 8, que comprende las siguientes etapas:
  - a) disolver en quitosano formamida en forma salificada, o polisacárido ácido salificado con sodio u otros metales alcalinos, por calentamiento;
  - 30 b) añadir a la solución resultante ácido lipoico preactivado por carbonildiimidazol en presencia de una base orgánica, a temperatura ambiente;
  - c) hacer reaccionar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante entre 1 y 24 horas;
  - d) diluir la mezcla de reacción con una solución acuosa reguladora y neutralizarla a un pH de 6-7,5;
  - e) purificar la mezcla de reacción diluida por precipitación con un disolvente adecuado, por diálisis o filtración tangencial;
  - 35 f) recuperar el producto por filtración o secado por aspersión, o congelar la solución acuosa purificada de polisacárido y recuperar el producto por liofilización.
11. Procedimiento como se reivindica en la reivindicación 10, en el que la base es una base orgánica aromática o alifática que comprende un átomo de nitrógeno trisustituido.
- 40 12. Procedimiento para la preparación de ácido hialurónico entrecruzado como se reivindica en la reivindicación 9, que comprende las siguientes etapas:
  - a) disolver ácido hialurónico salificado con sodio u otros metales alcalinos en formamida por calentamiento;
  - b) añadir a la solución resultante ácido lipoico preactivado por carbonildiimidazol, a temperatura ambiente;
  - c) hacer reaccionar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante entre 4 y 24 horas;
  - d) diluir la mezcla de reacción con una solución acuosa regulada y neutralizar a un pH de 6-7,5;
  - 45 e) purificar por diálisis la mezcla de reacción diluida;
  - f) congelar la solución acuosa de polisacárido purificada y recuperar el producto por liofilización.

13. Procedimiento como se reivindica en las reivindicaciones 10 y 12, en el que la temperatura de solubilización del polisacárido en formamida está comprendida entre 60 °C y 120 °C.
- 5 14. Procedimiento para la preparación de polisacáridos como se reivindica en la reivindicación 1, en el que la presencia de éster de formiato, si lo hay, se origina por hidrólisis de formamida bajo las condiciones experimentales descritas en las reivindicaciones 10 y 12.
15. Composiciones tópicas que comprenden los derivados de polisacáridos como se reivindica en las reivindicaciones 1-9, y excipientes inertes, dermatológicamente aceptables.
16. Composiciones tópicas como se reivindica en la reivindicación 15, que contienen el polisacárido en porcentajes entre 0,05% y 5% en peso de la composición.
- 10 17. Composiciones tópicas como se reivindica en la reivindicación 15, en forma de cremas, ungüentos, geles, líquidos hidrófilos, lociones acuosas o alcohólicas acuosas, emulsiones aceite/agua o agua/aceite.
18. Polisacáridos como se reivindica en las reivindicaciones 1-9, como agentes hidratantes tópicos, elastificantes, tonificantes, antioxidantes, antirradicales, antienvjecimiento y antiacné.
- 15 19. Polisacáridos como se reivindica en las reivindicaciones 1-9 para el tratamiento, como adyuvantes, de lesiones cutáneas.
20. Polisacáridos como se reivindica en las reivindicaciones 1-9 para el tratamiento de lesiones cutáneas causadas por inflamación, úlceras crónicas, heridas, dermatitis atópica o de contacto e hipertermia cutánea inducida por radiación.
- 20 21. Dispositivo médico en forma de jeringa que contiene un hidrogel de lipoato de ácido hialurónico entrecruzado preparado como se reivindica en la reivindicación 9, hinchado en solución salina estéril a una concentración de polímero entre 0,3% y 3% en peso/volumen.
22. Dispositivo médico como se reivindica en la reivindicación 21, como agente de viscosuplementación para aplicación intraarticular.
- 25 23. Dispositivo médico como se reivindica en la reivindicación 21, como relleno de la piel para aplicaciones de cirugía cosmética.





**Figura 1**

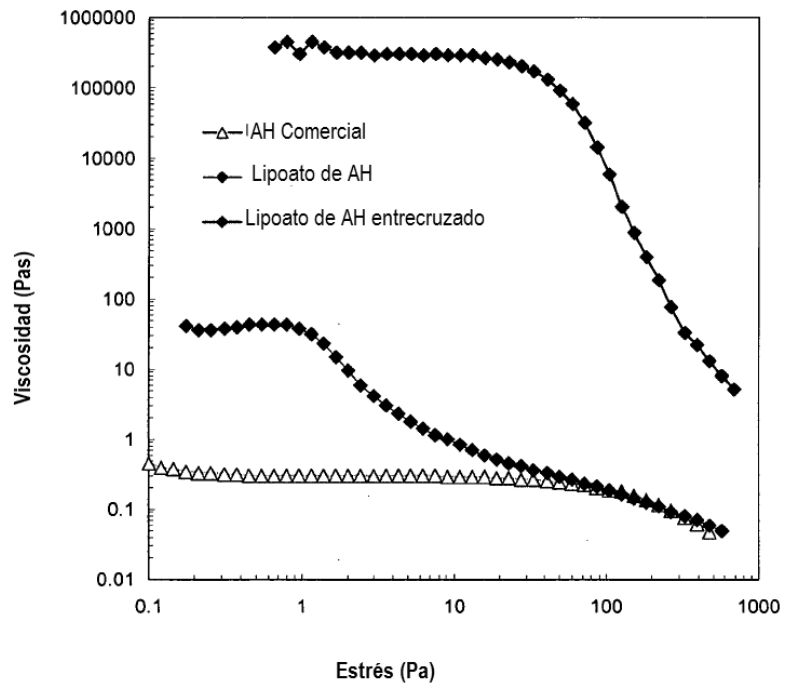


Figura 2

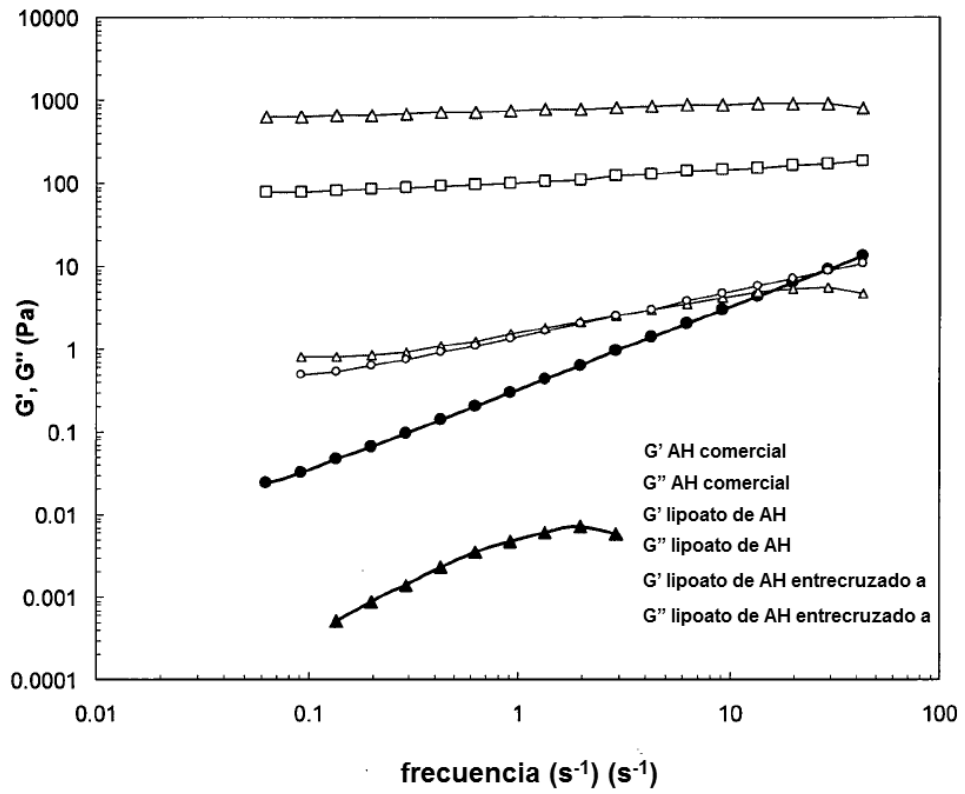


Figura 3