

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 633 712**

51 Int. Cl.:

C08B 11/12 (2006.01)

C08B 15/00 (2006.01)

C08B 37/02 (2006.01)

C08B 37/00 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

C08B 37/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.12.2007 PCT/IB2007/003973**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.07.2008 WO08081255**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.12.2007 E 07859095 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.07.2017 EP 2097457**

54 Título: **Derivados de polisacáridos ácidos**

30 Prioridad:

29.12.2006 EP 06425874

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

25.09.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**STUCCHI, LUCA;
BOSCO, MARCO;
GIANNI, RITA y
PICOTTI, FABRIZIO**

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 2 633 712 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 de polisacáridos ácidos

Esta invención se refiere a polisacáridos ácidos autoreticulados caracterizados por la presencia concomitante de ésteres de formiato, de ésteres con ácidos carboxílicos no polisacáridos y de ésteres entre los grupos ácidos del mismo polisacárido y los grupos alcoholílicos de las unidades repetitivas, en donde el polisacárido de partida es un polisacárido glicosaminoglicano seleccionado de hialuronano, sulfato de condroitina, heparán sulfato, dermatán sulfato, queratán sulfato.

Técnica anterior

En vista de sus características químico-fisiológicas y biológicas-bioquímicas, los polisacáridos carboxilados, ya sea naturales o semisintéticos, constituyen materias primas de considerable interés para una amplia variedad de aplicaciones en las industrias farmacéutica y cosmética. Algunos de ellos, tales como el ácido hialurónico (HA), son particularmente valorados por su alto nivel de biotolerabilidad e hidratabilidad. La elección del material suele estar relacionada con aspectos de costos basados en el valor y la importancia de la aplicación final.

Se han realizado muchos cambios estructurales en estos polisacáridos en los últimos años para optimizar sus características y hacerlos lo más apropiados posible para las aplicaciones deseadas. Estos cambios implican usualmente los grupos alcoholílicos de las unidades repetitivas, los grupos carboxilo y, si están presentes, los grupos amino.

La técnica anterior en su conjunto describe dos soluciones estructurales específicas:

1) monoesterificación simple de los hidroxilos alcoholílicos de las unidades repetitivas de polisacáridos, independientemente de su naturaleza y origen, con ácidos orgánicos, sin reticulación intermolecular;

2) formación de ésteres de autoreticulación entre los hidroxilos de las unidades repetitivas de polisacárido y los carboxilos presentes en el polisacárido.

El documento EP 0941253 describe la síntesis de derivados de HA con anhídrido butírico en un entorno básico, para obtener un producto no reticulado que tiene grupos hidroxilo esterificados y que no experimenta ninguna modificación significativa de sus propiedades viscoelásticas en solución acuosa. El procedimiento implica el uso de la sal de amonio cuaternario de HA y dimetilformamida (DMF) como solvente aprótico.

En el documento EP 341745, partiendo de HA o de HA, en el que los carboxilos están parcialmente esterificados con alcoholes de diversos tipos incluyendo alcoholes biológicamente activos, la función carboxilo de HA (o de sus derivados éster, definidos como "externos") se implica en la formación de ésteres intra o intermoleculares con los hidroxilos alcoholílicos de las unidades repetitivas, con reticulación consecuente (definida como "autoreticulación") e inducción de características viscoelásticas que no existían en el polisacárido de partida. El documento EP 341745 muestra que la autoreticulación se obtiene "activando" el carboxilo sustituyendo el grupo -OH por un grupo electro-atractor X que permite que el carbono carbonilo sea unido por un nucleófilo (tal como el grupo -OH de las unidades monosacárido), con desprendimiento simultáneo de X. Los reactivos descritos que son capaces de activar el carboxilo son los reactivos típicos, bien conocidos que suministran ésteres activados en la síntesis de péptidos, tales como carbodiimidias solubles en agua, carbonildiimidazol, carboniltriazol, N-hidroxisuccinimida, p-nitrofenol, p-nitrofeniltrifluoracetato, y sales de 2-halógeno-N-alquilpiridina [T. Mukaiyama, Ang. Chem., 10 (18) 1979, 707-808]; la reacción se cataliza con trietilamina (TEA). Los polisacáridos carboxilados de partida se salifican como sales de tetrabutilamonio (TBA) solubles en solventes apróticos, tales como dimetilsulfóxido (DMSO), para obtener una única fase de reacción. La misma patente reivindica también el uso de sales de sodio en los mismos solventes orgánicos apróticos para llevar a cabo la misma reacción. Sin embargo, este conflicto con el conocimiento del experto y con el ejemplo dado en la patente, ya que es bien sabido que esta sal no es soluble en solventes tales como DMF o DMSO. Dado que la modulación de las características quimicofísicas, reológicas y biológicas (en sentido amplio) de los productos basados en polisacáridos carboxilados es crucial para el propósito de la(s) aplicación(es) final(es) deseada(s), y el problema no parece haberse resuelto hasta la fecha, al menos en el campo de esta invención, existe una fuerte necesidad de productos con características ajustables, reproducibles, ventajosas, especialmente sus propiedades reológicas en términos de viscosidad de soluciones a diferentes concentraciones, viscoelasticidad y biotolerabilidad.

Descripción de la invención

Se ha descubierto ahora que los objetivos mencionados anteriormente se pueden conseguir con derivados de polisacáridos autoreticulados, caracterizados por la presencia concomitante de ésteres de formiato, de ésteres con ácidos carboxílicos no polisacáridos y de ésteres entre los grupos ácidos del mismo polisacárido y los grupos alcoholílicos de sus unidades repetitivas, en donde el polisacárido de partida es un glicosaminoglicano seleccionado entre hialuronano, sulfato de condroitina, heparán sulfato, dermatán sulfato, queratán sulfato. Los compuestos que

presentan simultáneamente las características de esterificación a los grupos hidroxilo y la autoreticulación no se han descrito en la técnica anterior.

5 La invención se refiere a derivados naturales o semisintéticos de polisacáridos ácidos en los que los grupos alcohólicos de las unidades repetitivas se presentan más o menos extensamente, en forma de ésteres con ácidos carboxílicos no polisacáridos, y los grupos de ácido urónico están esterificados, en diferente medida, con otros grupos alcohólicos libres presentes en las cadenas de polisacáridos. Este último tipo de enlace induce la autoreticulación del polisacárido, influyendo de este modo en el comportamiento viscoelástico de los productos finales; una elección apropiada del residuo acilo usado para esterificar los hidroxilos alcohólicos permite que sean moduladas otras propiedades químico-físicas, tales como hidrofilia/lipofilia y viscosidad. El grado de autoreticulación, que es ajustable y reproducible, influye en las características de los productos finales (geles rígidos, geles débiles, productos con mayor viscosidad). En vista de sus características químico-físicas y reológicas, los derivados de acuerdo con la invención se pueden utilizar como constituyentes de dispositivos médicos de diversos grados (I, II y III), tales como agentes de carga dérmicos inyectables, materiales de antiadherencia postquirúrgica, dispositivos para la cicatrización de llagas y heridas, etc., en formulaciones galénicas de liberación lenta, etc..

15 Los ensayos reológicos demuestran que los derivados de acuerdo con la invención poseen propiedades reológicas caracterizadas por un comportamiento viscoelástico que se puede modular de acuerdo con el grado de autoreticulación del sistema, que varía desde una solución a la característica de un gel fuerte. Se encontró que la viscosidad a bajas velocidades de cizallamiento y la resistencia a la fuerza aplicada podrían ser moduladas fácilmente. Finalmente, se encontró que las mezclas de polímeros de la invención tienen una buena capacidad para recuperar sus propiedades viscoelásticas después de una historia reológica de tensiones impuestas (propiedades pseudoplásticas).

20 La invención se refiere también al procedimiento para la preparación de estos derivados que comprende la reacción, en fase homogénea en el solvente prótico, polar, formamida, de la sal de un catión inorgánico monovalente, tal como sodio o potasio, del polisacárido carboxilado seleccionado con un anhídrido de un ácido alquilcarboxílico, tal como anhídrido acético, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico o crotónico, etc., en presencia de un catalizador básico que contiene un átomo de nitrógeno trisustituido, o una base inorgánica tal sal sódica o potasio de ácido fosfórico o una sal de un ácido orgánico con sodio o potasio. El intervalo de los residuos hidroxilo implicados en los enlaces éster con el residuo acilo que deriva del anhídrido está entre 0.01 y 0.9xN, donde N es el número de hidroxilos en la unidad de repetición. Además, el éster de formiato formado por la hidrólisis de la formamida en el entorno de reacción particular no puede ser superior a 0.2.

30 Los polisacáridos de partida pueden estar en forma nativa o modificados de forma diferente de acuerdo con las funciones químicas presentes.

35 La ventaja del uso directo de una sal catiónica inorgánica es obvia porque, como se describe más adelante, elimina la necesidad de transformación preliminar del polisacárido en la sal de una base orgánica (tal como TBA) soluble en solventes apróticos tales como DMF, DMSO, N-metilpirrolidona, etc., una operación larga y costosa que implica el riesgo de despolimerización.

40 Todas las pruebas confirman la capacidad de modulación y reproducción del procedimiento de acuerdo con la invención. Utilizando dicho procedimiento, es posible elegir qué aspecto reológico debe darse prioridad con el fin obtener productos que presenten un simple aumento de su viscosidad en solución (bajo grado de autoreticulación y diferente grado de esterificación) o derivados con propiedades viscoelásticas variables que oscilan desde geles débiles a geles fuertes.

Los polisacáridos ácidos, ya sea en forma ácida o en forma de sus sales inorgánicas, de acuerdo con la invención son glicosaminoglicanos seleccionados entre: hialuronano, sulfato de condroitina, heparán sulfato, dermatán sulfato, queratán sulfato. Se prefiere particularmente el ácido hialurónico.

45 Los productos de acuerdo con la invención se pueden utilizar como agentes (dermo-)cosméticos hidratantes, dispositivos médicos, agentes de viscosuplementación intraarticulares, agentes de carga postquirúrgicos de antiadherencia y materiales para cubrir heridas o llagas.

Los productos de acuerdo con la invención también se pueden utilizar ventajosamente como un portador para la liberación o absorción controlada de fármacos activos.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención con mayor detalle.

50 Ejemplos

Los análisis de ^1H RMN se realizan en D_2O con un espectrómetro Bruker Advance 400 equipado con una sonda multinuclear de 5 mm con un gradiente z a 300 K. Los análisis también utilizan experimentos ordenados por difusión (DOSY: espectroscopia de difusión ordenada).

Los ensayos reológicos se realizaron con un reómetro rotacional de estrés controlado Rheostress Haake RS150.

La determinación del porcentaje de grupos éster de los hidroxilos alcohólicos polisacáridos con los distintos ácidos carboxílicos no polisacáridos (DE) y con los carboxilos polisacáridos (AUC) se expresó como la relación molar entre los moles de éster y polisacárido por medio de análisis espectroscópico ^1H RMN.

- 5 Una muestra de polisacárido reticulado esterificado hinchado en formamida que contiene exceso de propilamina se deja bajo agitación magnética a temperatura ambiente durante 16 horas. El polisacárido se recupera por precipitación en acetona, se lava con acetona y se seca. El sólido se analiza por ^1H RMN. La reacción de acilación de la amina con ésteres carboxílicos (Michael B. Smith and Jerry March – *March's Advanced Organic Chemistry, 5th ed.*, Wiley Interscience, página 510) se aprovecha para determinar los ésteres utilizados anteriormente en la reticulación; esta
10 metodología es selectiva, porque las condiciones blandas utilizadas sólo implican ésteres inestables. Se analizan los ésteres a los hidroxilos, de nuevo con ^1H RMN, aprovechando la diferente resonancia de los metilos y metilenos de los residuos acilo unidos a los hidroxilos en comparación con las otras señales poliméricas. Estos análisis se realizan después de la adición de pocos microlitros de una solución de NaOD directamente dentro del tubo de RMN que contiene el gel hinchado en D_2O , induciendo de este modo la hidrólisis completa tanto de los ésteres de reticulación como de los
15 ésteres con los ácidos no sacáridos.

Los siguientes ejemplos describen los detalles de la síntesis de algunos polisacáridos ácidos autoreticulados de acuerdo con la invención.

Ejemplo 1: Síntesis de ácido hialurónico reticulado, sal sódica, éster de acetato; grado de autoreticulación (AUC): 0.07; grado de esterificación (DE): 0.19 (acetato), 0.12 (formiato)

- 20 1.0 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.49 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 33 mL de formamida a 95°C , bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 352 μL de anhídrido acético (3.73 mmol) y 312 μL de trietilamina (2.24 mmol). Después de 16 horas de reacción, se adicionaron otros 521 μL de trietilamina (3,74 mmol), y se dejó agitar el sistema durante otras 6 horas.
- 25 A continuación, el gel se transfirió lentamente y bajo agitación constante, en 100 mL de una solución 0.2 M de NaCl, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12,000 D) y se dializó, en primer lugar, contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua desmineralizada. Finalmente, se congeló y se liofilizó.

Se obtuvieron 0.94 g de liofilizado de color blanco.

- 30 El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.07; DE: 0.19 (acetato), 0.12 (formiato).

Ejemplo 2: Síntesis de ácido hialurónico reticulado, sal sódica, éster de acetato; grado de autoreticulación (AUC): 0.05; grado de esterificación (DE): 0.16 (acetato), 0.01 (formiato)

- 35 1.0 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.49 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 33 mL de formamida a 80°C , bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 235 μL de anhídrido acético (2.49 mmol) y 311 μL de trietilamina (2.23 mmol). Después de 16 horas, se adicionaron 320 μL adicionales de trietilamina (2.29 mmol) y el sistema se dejó en agitación durante 6 horas más.

- 40 A continuación, el gel se transfirió lentamente y bajo agitación constante en 70 mL de una solución 0.2 M de NaCl y se neutralizó con KH_2PO_4 . Después de aprox. 16 horas de agitación, el sistema se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua desmineralizada. Finalmente, se congeló y se liofilizó.

Se obtuvieron 0.9 g de liofilizado de color blanco.

El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.05; DE: 0.16 (acetato), 0.01 (formiato).

- 45 Ejemplo 3: Síntesis de sal sódica de acetato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.05; grado de esterificación (DE): 0.15 (acetato), 0.05 (formiato)

1.0 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.49 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 33 mL de formamida a 95°C , bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 235 μL de anhídrido acético (2.49 mmol) y

277 μL de trietilamina (1.99 mmol). Después de 16 horas de reacción, se adicionaron 417 μL adicionales de trietilamina (3.00 mmol) y el sistema se dejó en agitación durante 6 horas más.

5 A continuación, el gel se transfirió lentamente y bajo agitación constante en 70 mL de una solución 0.2 M de NaCl y a continuación a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua desmineralizada. Finalmente, se congeló y se liofilizó.

Se obtuvieron 0.98 g de liofilizado de color blanco.

El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.05; DE: 0.15 (acetato), 0.05 (formiato).

10 Ejemplo 4: Síntesis de sal sódica de acetato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.03; grado de esterificación (DE): 0.12 (acetato), 0.03 (formiato)

15 1.02 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.54 mmol de unidades monoméricas, se disolvieron en 33 mL de formamida a 95°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 120 μL de anhídrido acético (1.27 mmol) y 140 μL de trietilamina (1.01 mmol). Después de 22 horas se adicionaron 140 μL adicionales de trietilamina (1.01 mmol) y la masa gelatinosa obtenida se dejó en agitación durante 6 horas más.

A continuación, la mezcla de reacción se transfirió en 100 mL de una solución 0.2 M de NaCl, se vertió en una membrana de diálisis (corte 12,000 D) y se dializó, en primer lugar, contra una solución 0.2 M de NaCl y en segundo lugar contra agua desmineralizada. Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó, y se obtuvo 1.00 g de liofilizado de color blanco.

20 El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.03; DE: 0.12 (acetato), 0.03 (formiato).

Ejemplo 5: Síntesis de sal sódica de acetato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.01; grado de esterificación (DE): 0.05 (acetato), 0.01 (formiato)

25 1.00 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.49 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 33 mL de formamida a 95°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 82 μL de anhídrido acético (0.87 mmol) y 87 μL de trietilamina (0.63 mmol). Después de 19 horas se adicionaron 348 μL adicionales de trietilamina (2.52 mmol) y la masa gelatinosa obtenida se dejó en agitación durante 6 horas más.

30 A continuación, la mezcla de reacción se transfirió en 100 mL de agua desmineralizada, se vertió en una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó en primer lugar contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra una membrana de diálisis y se dializó, en primer lugar, contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua desmineralizada. Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó, y se obtuvieron 0.89 g de liofilizado de color blanco.

El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.01; DE: 0.05 (acetato), 0.01 (formiato).

35 Ejemplo 6: Síntesis de sal sódica de acetato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.03; grado de esterificación (DE): 0.08 (acetato), 0.18 (formiato)

40 2.00 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 4.99 mmol de unidades monoméricas, se solubilizaron en 67 mL de formamida a 80°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 710 μL de anhídrido acético (7.52 mmol) y 970 μL de trietilamina (6.97 mmol).

Después de 2 horas y 30 minutos, el gel se transfirió en 350 mL de una solución 0.2 M de NaCl y la mezcla se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra NaCl 0.2 M y después de manera exhaustiva contra agua desmineralizada. Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó y se obtuvieron 2.10 g de liofilizado de color blanco.

45 El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.03; DE: 0.08 (acetato), 0.18 (formiato).

Ejemplo 7: Síntesis de sal sódica de acetato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.03; grado de esterificación (DE): 0.23 (acetato), 0.19 (formiato)

ES 2 633 712 T3

- 5 1.01 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.49 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 33 mL de formamida a 95°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 240 µL de anhídrido acético (2.54 mmol) y una solución de 0.28 g de dimetilaminopiridina (2.29 mmol), disueltos en 2 mL de formamida. Después de 19 horas, se adicionaron 0.56 g adicionales de dimetilaminopiridina (4.58 mmol), disueltos en 4 mL de formamida, y el sistema se dejó en agitación durante 5 horas más.
- A continuación, el gel se transfirió lentamente y bajo agitación constante en 150 mL de una solución 0.2 M de NaCl y se neutralizó con KH_2PO_4 . A continuación, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua desmineralizada. Finalmente, se congeló y se liofilizó.
- 10 Se obtuvieron 1.09 g de liofilizado de color blanco.
- El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.03; DE: 0.23 (acetato), 0.19 (formiato).
- Ejemplo 8: Síntesis de sal sódica de propionato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.05; grado de esterificación (DE): 0.06 (propionato), 0.07 (formiato).
- 15 1.02 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.54 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 33 mL de formamida a 95°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 330 µL de anhídrido propiónico (2.57 mmol) y 320 µL de trietilamina (2.30 mmol).
- 20 A continuación, la mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación durante aproximadamente 3 horas, y se adicionaron otros 320 µL de trietilamina (2.30 mmol). Después de 2 horas, el gel se transfirió en 100 mL de agua desmineralizada y se neutralizó con KH_2PO_4 . A continuación, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua desmineralizada.
- Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó y se obtuvieron 0.96 g de liofilizado de color blanco.
- 25 El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.05; DE: 0.06 (propionato), 0.07 (formiato).
- Ejemplo 9: Síntesis de sal sódica de butirato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.06; grado de esterificación (DE): 0.18 (butirato), 0.08 (formiato)
- 30 1.00 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.52 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 33 mL de formamida a 95°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 610 µL de anhídrido butírico (3.73 mmol) y 310 µL de trietilamina (2.23 mmol).
- 35 A continuación, la mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación durante aproximadamente 20 horas, y se adicionaron otros 550 µL de trietilamina (3.95 mmol). Después de 6 horas, el gel se transfirió en 150 mL de agua ultrapura, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra 0.2 M de NaCl y en segundo lugar contra agua ultrapura.
- Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó, y se obtuvieron 0.95 g de liofilizado de color blanco.
- El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.06; DE: 0.18 (butirato), 0.08 (formiato).
- 40 Ejemplo 10: Síntesis de sal sódica de butirato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.05; grado de esterificación (DE): 0.15 (butirato), 0.15 (formiato)
- 1.01 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.52 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 33 mL de formamida a 95°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 490 µL de anhídrido butírico (3.00 mmol) y 280 µL de trietilamina (2.01 mmol).
- 45 La mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación durante aproximadamente 5 horas, y se adicionaron 280 µL adicionales de trietilamina (2.01 mmol). Después de 16 horas, el gel se transfirió en 150 mL de agua ultrapura, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua ultrapura.

ES 2 633 712 T3

Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó, y se obtuvo 1.00 g de liofilizado de color blanco.

El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.05; DE: 0.15 (butirato), 0.15 (formiato).

5 Ejemplo 11: Síntesis de sal sódica de butirato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.03; grado de esterificación (DE): 0.08 (butirato), 0.02 (formiato)

1.00 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.49 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 33 mL de formamida a 80°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 360 µL de anhídrido butírico (2.20 mmol) y 311 µL de trietilamina (2.23 mmol).

10 A continuación, la mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación durante aproximadamente 16 horas, y se adicionaron otros 311 µL de trietilamina (2.23 mmol). Después de 6 horas y 30 minutos el gel se transfirió en aprox. 40 mL de una solución 0.2 M de NaCl, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó exhaustivamente contra agua desmineralizada. Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó, y se obtuvieron 0.90 g de liofilizado de color blanco.

15 El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.03; DE: 0.08 (butirato), 0.02 (formiato).

Ejemplo 12: Síntesis de sal sódica de butirato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.03; grado de esterificación (DE): 0.10 (butirato), 0.08 (formiato)

20 1.00 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.52 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 33 mL de formamida a 95°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 244 µL de anhídrido butírico (1.49 mmol) y 173 µL de trietilamina (1.24 mmol).

25 A continuación, la mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación durante aproximadamente 16 horas, y se adicionaron otros 208 µL de trietilamina (1.49 mmol). Después de 6 horas, el gel se transfirió en 100 mL de agua ultrapura, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó en primer lugar contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua ultrapura.

Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó, y se obtuvieron 0.95 g de liofilizado de color blanco.

El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.03; DE: 0.1 (butirato), 0.08 (formiato).

30 Ejemplo 13: Síntesis de sal sódica de butirato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.02; grado de esterificación (DE): 0.06 (butirato), 0.05 (formiato).

35 1.00 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.49 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 33 mL de formamida a 95°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 210 µL de anhídrido butírico (1.28 mmol) y 140 µL de trietilamina (1.0 mmol).

A continuación, la mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación durante 17 horas, y se adicionaron 320 µL adicionales de trietilamina (3.00 mmol). Después de 6 horas y 30 minutos el gel se transfirió en 150 mL de agua ultrapura, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua ultrapura.

40 Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó, y se obtuvieron 0.99 g de liofilizado de color blanco.

El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.02; DE: 0.06 (butirato), 0.05 (formiato).

Ejemplo 14: Síntesis de sal sódica de butirato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.01; grado de esterificación (DE): 0.06 (butirato), 0.02 (formiato).

45 1.01 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.52 mmol de unidades monoméricas, se disolvieron en 33 mL de formamida a 95°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente, y se adicionaron 125 µL de anhídrido butírico (0.76 mmol) y 75 µL de trietilamina (0.5 mmol).

ES 2 633 712 T3

A continuación, la mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación durante 18 horas, y se adicionaron 740 μL adicionales de trietilamina (5.32 mmol). Después de 6 horas, el sistema se transfirió en 200 mL de agua desmineralizada, se neutralizó con KH_2PO_4 , se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra una NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua.

5 Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó y se obtuvieron 0.82 g de liofilizado de color blanco.

El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.01; DE: 0.06 (butirato), 0.02 (formiato).

Ejemplo 15: Síntesis de sal sódica de éster de formiato, acetato, butirato del ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.03; grado de esterificación (DE): 0.12 (butirato), 0.14 (acetato), 0.06 (formiato)

10 1.65 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, grado de inyección, con un peso molecular de aprox. 500 kD, igual a 4.11 mmol de unidades monoméricas, Se disolvió en 33 mL de formamida a 95°C , bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 670 μL de anhídrido butírico (4.1 mmol).

15 La mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación mecánica durante aproximadamente 30 minutos y se adicionaron 2 mL de una solución de formamida que contenía 1.21 g de acetato de potasio (12.3 mmol). Después de 16 horas, el gel se transfirió en 200 mL de agua ultrapura, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua ultrapura.

Todos los equipos de reacción y purificación fueron confinados bajo una vitrina de flujo laminar vertical para evitar la contaminación. La cristalería y el agua estaban libres de pirógenos.

20 Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó, y se obtuvieron 1.60 g de liofilizado de color blanco.

El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.03; DE: 0.12 (butirato), 0.14 (acetato), 0.06 (formiato).

Ejemplo 16: Síntesis de sal sódica de butirato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.03; grado de esterificación (DE): 0.55 (butirato), 0.15 (formiato)

25 Se disolvieron 0.50 g de butirato de ácido hialurónico en forma de sal sódica (grado de butiración, es decir, moles de grupos butíricos sobre moles de polisacárido, igual a aproximadamente 0.54, $\text{PM} = 439$ g/mol, 1.14 mmol) en 17 mL de formamida a 60°C , bajo flujo de nitrógeno y con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 186 μL de anhídrido butírico (1,14 mmol) y 143 μL de trietilamina (1.03 mmol).

30 A continuación, la mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación durante 19 horas, y se adicionaron 143 μL adicionales de trietilamina (1.03 mmol). Después de $4\frac{1}{2}$ horas, el sistema se transfirió en 100 mL de una solución 0.2 M de NaCl y se neutralizó con KH_2PO_4 . A continuación, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua desmineralizada.

Finalmente, la muestra se congeló y se liofilizó, y se obtuvieron 0.45 g de liofilizado de color blanco.

35 El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.03; DE: 0.55 (butirato), 0.15 (formiato).

Ejemplo 17: Síntesis de sal sódica de crotonato de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.05; grado de esterificación (DE): 0.08 (crotonato), 0.10 (formiato).

40 1.02 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 2.54 mmol de unidades monoméricas, se disolvieron en 32 mL de formamida a 95°C , bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 380 μL de anhídrido crotonico (2.56 mmol) y 320 μL de trietilamina (2.30 mmol).

45 La mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación durante 18 horas, y se adicionaron otros 320 μL de trietilamina (2.30 mmol). Después de 7 horas y 30 minutos el gel se transfirió a 150 mL de agua ultrapura, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, en primer lugar, contra una solución acuosa NaCl 0.2 M y en segundo lugar contra agua ultrapura.

Finalmente, la muestra se congeló y se recuperó por liofilización.

Se obtuvieron 0.45 g de liofilizado de color blanco.

El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.05; DE: 0.08 (crotonato), 0.10 (formiato).

Ejemplo 18: Síntesis de sal sódica de isovalerato (o 3-metil-butirato) de ácido hialurónico reticulado, grado de autoreticulación (AUC): 0.03; grado de esterificación (DE): 0.08 (isovalerato), 0.02 (formiato).

5 0,48 g de ácido hialurónico en forma de sal sódica, con un peso molecular de aprox. 300 kD, igual a 1.21 mmol de unidades monoméricas, se disolvió en 16 mL de formamida a 95°C, bajo flujo de nitrógeno, con agitación mecánica. A continuación, la solución se enfrió a temperatura ambiente y se adicionaron 240 µL de anhídrido isovalérico (1.20 mmol) y 150 µL de trietilamina (1.08 mmol).

10 La mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación durante 16 horas, y se adicionaron otros 167 µL de trietilamina (1.20 mmol). Después de 6 horas, el gel se transfirió en 100 mL de agua desmineralizada y se neutralizó con KH₂PO₄, y se adicionaron 2.5 g de NaCl. A continuación, se transfirió a una membrana de diálisis (corte 12000 D) y se dializó, contra agua.

Finalmente, la muestra se congeló y se recuperó por liofilización.

Se obtuvieron 0.89 g de liofilizado de color blanco.

15 El producto, analizado de acuerdo con el método descrito anteriormente, presentó AUC: 0.03; DE: 0.08 (isovalerato), 0.02 (formiato).

Ejemplo 19: Preparación de una jeringa que contiene 1.5 ml de un hidrogel al 2% basado en polímero autoreticulado como se obtiene de acuerdo con el ejemplo 15.

20 Se pesaron 30 mg del polímero autoreticulado liofilizado, como se obtuvo de acuerdo con el ejemplo 15, en una jeringa de 2.0 mL y se adicionaron 1.47 g de una solución acuosa que contenía 0.9% (p/v) de cloruro de sodio. Todos los procedimientos experimentales se llevaron a cabo bajo una vitrina de flujo laminar vertical utilizando materiales libres de pirógenos; La solución fisiológica mencionada anteriormente se preparó usando agua libre de pirógenos. El polímero se dejó hinchar durante 24 horas a temperatura ambiente. Finalmente se esterilizó la jeringa por medio de un ciclo térmico estándar a 121°C, durante 16 minutos.

25 Caracterización reológica de derivados esterificados y reticulados

30 Los estudios reológicos destacan cómo los sistemas poliméricos examinados exhiben una amplia variedad de comportamientos reológicos dependiendo de la densidad de reticulación de la red. De hecho, para diferentes grados de reticulación del sistema, la baja viscosidad de cizallamiento difiere de muchas décadas y las curvas de flujo varían espectacularmente de un líquido viscoso a un perfil sólido elástico. El comportamiento viscoelástico adicional varía desde un tipo de solución a un tipo de gel fuerte, confirmando la variabilidad de las propiedades de los productos objeto de la presente invención.

Método y resultados

Para las mediciones reológicas se utilizó un reómetro de esfuerzo controlado, un espectrómetro mecánico capaz de someter una muestra a ya sea un esfuerzo de cizallamiento dinámico (sinusoidal) o constante (lineal).

35 Un campo magnético genera un torque en el sensor de medición móvil superior, soportado por cojinete de aire, que se convierte en tensión aplicada sobre la muestra. Al mismo tiempo, el grado de rotación resultante y la velocidad del sistema de medición móvil se detectan mediante un sistema láser óptico, y de este modo se calcula la tensión gastada por la muestra en respuesta a la tensión de cizallamiento y la velocidad de cizallamiento.

40 El reómetro utilizado fue Rheostress Haake RS150, equipado con sensores de superficies rugosas o lisas útiles para todos los tipos de mediciones en rotación y oscilación, respectivamente para sistemas de alta o baja estructura. Todas las mediciones se realizaron a 25°C, utilizando un termocontrolador específico.

Se realizaron tres tipos de mediciones con el fin de caracterizar los productos de acuerdo con la invención:

- curvas de flujo: mediciones continuas/estables de viscosidad en una amplia gama de velocidad de cizallamiento o tensión de cizallamiento;

45 - barrido de frecuencia y tensión: las mediciones dinámicas (oscilación) para la determinación de las muestras de comportamiento viscoelástico. En particular, el barrido de tensión se realiza con el fin de individualizar la extensión de rango viscoelástico lineal y, de este modo, el valor de tensión crítico para la transición lineal/no lineal. El barrido de frecuencia proporciona los perfiles mecánicos de los sistemas, que son los perfiles del módulo de almacenamiento G' y el módulo de pérdida G'', en una amplia gama de frecuencias, en el campo de viscoelasticidad lineal

- barrido de recuperación: para evaluar la recuperación de las propiedades viscoelásticas de una muestra sometida a una determinada historia reológica: se aplican tres ciclos de medición, cada uno compuesto por pasos oscilatorios, bajo amplitud y frecuencia constantes de tensión, antes y después de la aplicación de una velocidad de cizallamiento constante (respectivamente $100s^{-1}$, $100s^{-1}$, $500s^{-1}$ durante cada ciclo)

5 Las pruebas se realizaron en muestras hinchadas en solución salina a la concentración de 1% p/p.

Ejemplos de curvas de flujo y espectros mecánicos en la figura 2, de una familia de ésteres de butirato de hialuronano en solución fisiológica al 1% p/p, con diferentes grados de reticulación, preparados como se describe en los ejemplos 10, 13, 14 y de los patrones de referencia (sal de sodio de HA, $M_w = 300KDa$) se encuentran en las figuras 1 y 2, respectivamente.

10 Curvas de flujo-pruebas de estado estacionario continuo

La figura 1 muestra cómo la viscosidad de cizallamiento cero varía entre $0,01 Pa \cdot s$ y $100.000 Pa \cdot s$ aumentando el grado de reticulación y cómo ocurren cambios cualitativos y cuantitativos en las propiedades reológicas sobre el amplio rango de tensión de cizallamiento. Los compuestos que tienen un bajo grado de reticulación se comportan como soluciones mientras más reticulados son, más plástico se convierten. De hecho, sus perfiles varían desde un comportamiento casi newtoniano al aparentemente plástico, caracterizado por una caída espectacular de la viscosidad de muchos órdenes de magnitud sobre un estrecho rango de tensión de cizallamiento.

15

Ensayos oscilatorios

La figura 2 muestra los espectros mecánicos de diferentes sistemas. No se pudo registrar espectros mecánicos para los compuestos que tenían el grado de reticulación más bajo indicado como referencia y el ejemplo 14, ya que no se podía reconocer un campo de viscoelasticidad lineal.

20

En cuanto a los otros dos compuestos, es posible observar la transición de un comportamiento de solución a un perfil de gel fuerte. Las soluciones muestran un módulo viscoso (G'') más alto que el elástico (G') a bajas frecuencias, mientras que, a medida que aumenta la frecuencia, un módulo de cruce que toma. Los geles fuertes muestran un módulo de almacenamiento más alto que el viscoso en todo el rango experimental de frecuencias. Cuanto más estructurados estén los sistemas, mayores serán los valores del módulo.

25

Pruebas de recuperación

El comportamiento de los compuestos descritos en el ejemplo 13 se muestra durante una prueba de recuperación en las figuras 3a, 3b, 3c: es posible observar una recuperación completa tanto de componentes elásticos como viscosos en cada paso.

30 Conclusiones

Estos estudios demostraron que algunos derivados representativos de acuerdo con la invención, sometidos a caracterización reológica, presentan diferentes comportamientos viscoelásticos dependiendo del grado de reticulación, que varían desde una solución viscosa hasta un comportamiento fuertemente similar al gel. Además, se demostró la alta capacidad de recuperación de las propiedades viscoelásticas después de aplicar un programa de trabajo reológico completo.

35

Todos los resultados experimentales confirman la gran flexibilidad y reproducibilidad del procedimiento de la invención para la síntesis de los compuestos reivindicados.

Los resultados de la caracterización reológica de algunas muestras representativas de los productos obtenidos se exponen en la Tabla 1.

Ejemplo no.	Viscosidad de cizallamiento η_0 [Pa.s]	Viscosidad de cizallamiento η a velocidad de cizallamiento $700s^{-1}$ [Pa.s]	Módulo de almacenamiento G' a 1HZ [Pa]	Módulo de pérdida G'' a 1HZ [Pa]	Éster D.S.	Enlaces D.S.
Nativo lineal	0.1	0.05	np	np	0	0
Éster butirato lineal	0.008	0.007	np	np	0.07	0

ES 2 633 712 T3

Ejemplo no.	Viscosidad de cizallamiento η_0 [Pa.s]	Viscosidad de cizallamiento η a velocidad de cizallamiento 700s ⁻¹ [Pa.s]	Módulo de almacenamiento G' a 1HZ [Pa]	Módulo de pérdida G'' a 1HZ [Pa]	Éster D.S.	Enlaces D.S.
4	10.000,0	0.09	60	21	0.12	0.03
5	0.9	0.05	0.8	1.8	0.05	0.01
6	8.00,0	0.2	32	12	0.08	0.03
10	87.000,0	0.10	165	38	0.15	0.05
13	30.0	0.07	3.1	3.3	0.06	0.02
14	0.06	0.01	np	Np	0.06	0.01
15(1)	180.000,0	15	777.3	173.8	0.06	0.01

(1) El gel se hinchó en un NaCl al 0.9% a pH = 5.5 solución acuosa; la concentración de polímero fue 2% p/p.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Polisacáridos ácidos autoreticulados, caracterizados por la presencia concomitante de ésteres de formiato, de ésteres con ácido carboxílico no polisacárido y de ésteres entre los grupos ácidos del mismo polisacárido y los grupos alcohólicos de las unidades repetitivas, en donde el polisacárido de partida es un glicosaminoglicano seleccionado entre hialuronano, sulfato de condroitina, heparán sulfato, dermatán sulfato, queratán sulfato.
2. Polisacáridos ácidos autoreticulados según la reivindicación 1, en los que las funciones carboxilo están presentes en forma ácida o salificada.
3. Polisacáridos ácidos autoreticulados según la reivindicación 2, en los que las funciones carboxilo son salificadas con metales alcalinos.
- 10 4. Polisacáridos ácidos autoreticulados según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en los que el ácido carboxílico no polisacárido se selecciona en el grupo de ácido acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico y crotónico (grupo A) y fórmico.
- 15 5. Polisacáridos ácidos autoreticulados según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en los que los ésteres de ácidos del grupo A en los hidroxilos presentan un grado de sustitución que varía entre 0.01 y 0.9xN, siendo N el número de hidroxilos presentes en la unidad repetitiva, Mientras que el éster de formiato no es superior a 0.2.
6. Polisacáridos ácidos autoreticulados según la reivindicación 5, en los que los ésteres del grupo A en los hidroxilos presentan un grado de sustitución que varía entre 0.01 y 0.5 en relación con la unidad repetitiva.
7. Procedimiento para la preparación de los polisacáridos ácidos autoreticulados como se describe en las reivindicaciones 1-6, que comprende las siguientes etapas:
- 20 a) solubilización por calentamiento del polisacárido carboxilado en formamida;
- b) adición de un anhídrido del ácido no polisacárido a temperatura ambiente durante un tiempo comprendido entre 10 minutos y 2 horas;
- c) adición de la base y dejar reaccionar a temperatura ambiente durante un periodo entre 4 horas y 24 horas;
- d) adición de una solución acuosa de cloruro de sodio y neutralización a un pH entre 6 y 7.5;
- 25 e) purificación de la mezcla de reacción por medio de diálisis;
- f) recuperación del polímero mediante liofilización.
8. Procedimiento según la reivindicación 7, en el que el anhídrido es el anhídrido elegido entre acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico y crotónico.
- 30 9. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en el que la base se elige entre una base orgánica que contiene un átomo de nitrógeno trisustituido, una base inorgánica, una sal de un ácido orgánico con sodio y potasio.
10. Procedimiento para la preparación de polisacáridos ácidos autoreticulados como se describe en la reivindicación 7, en el que el éster de formiato se forma a partir de la hidrólisis de formamida en presencia de uno de los anhídridos como se describe en la reivindicación 8 y una de las bases como se describe en la reivindicación 9.
- 35 11. Polisacáridos según las reivindicaciones 1-6, para uso como dispositivos médicos, agentes hidratantes, agentes de viscosuplementación intraarticulares, agentes de carga de adherencia antitejido en cirugía y materiales para cubrir heridas y llagas.

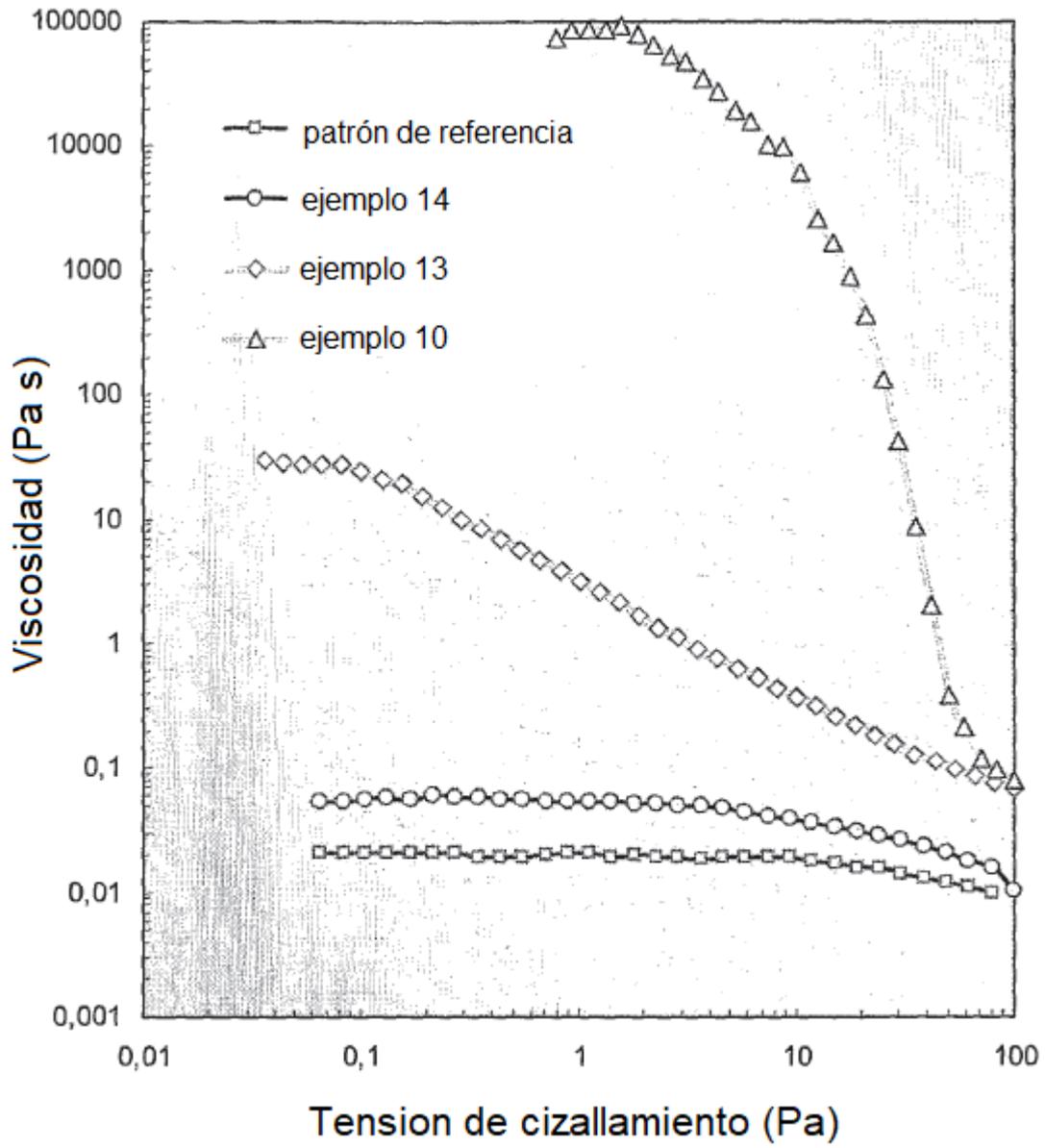


Fig. 1

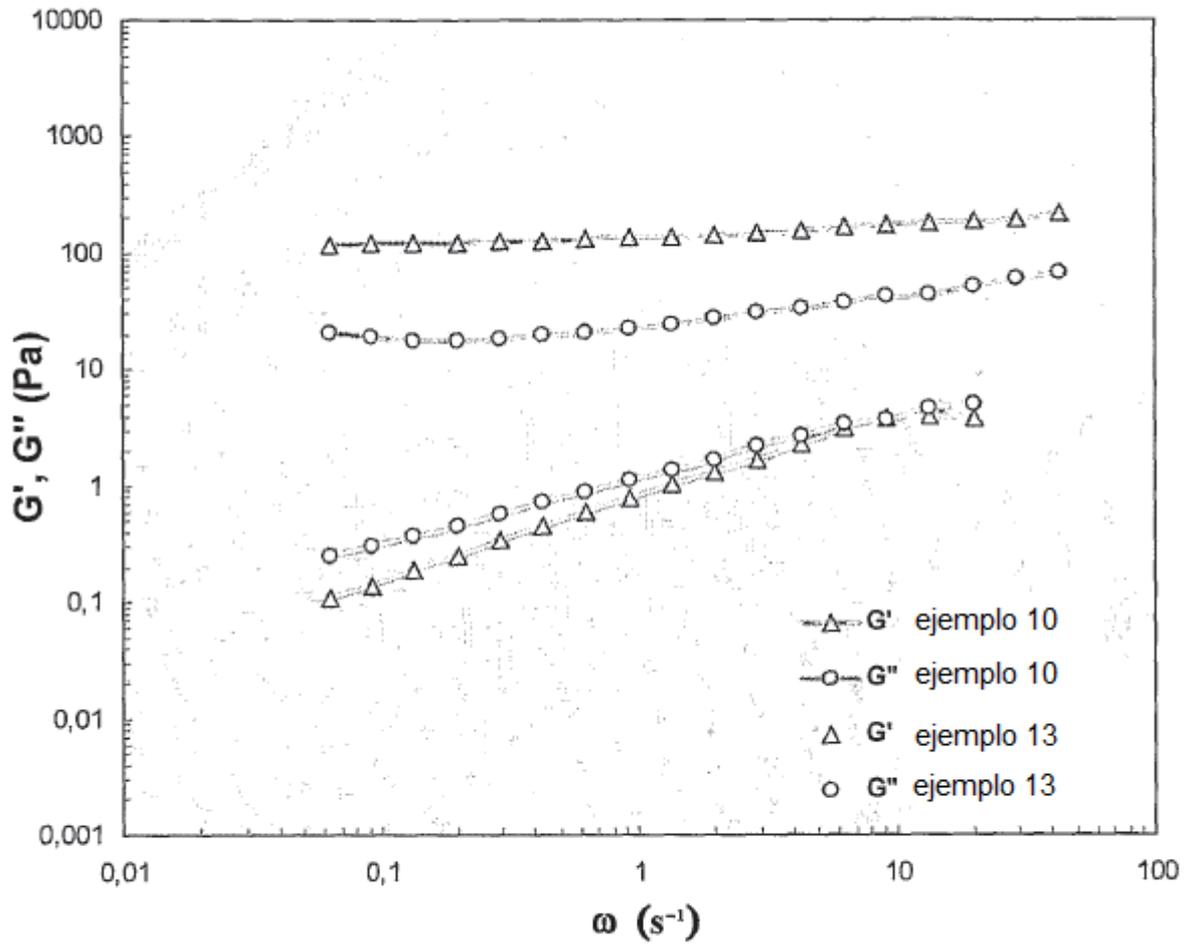


Fig. 2

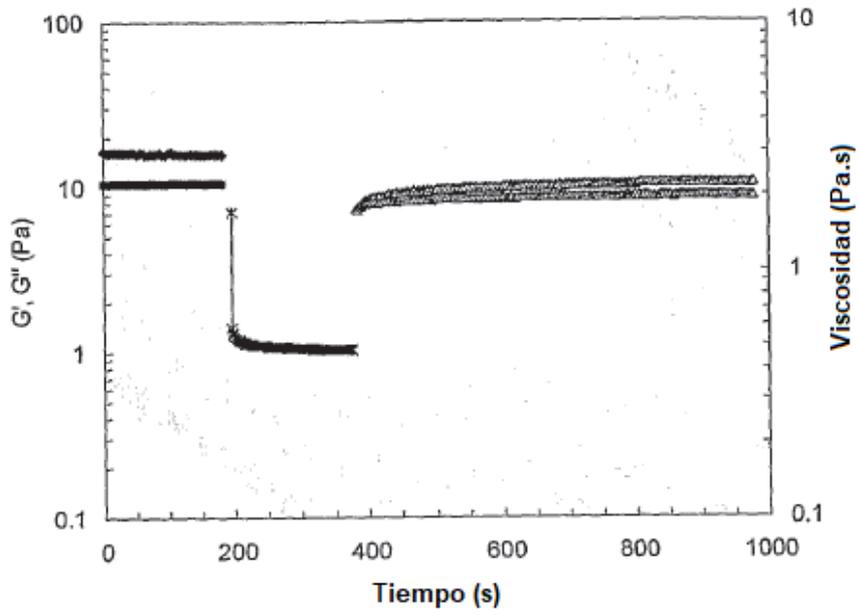


Fig 3a

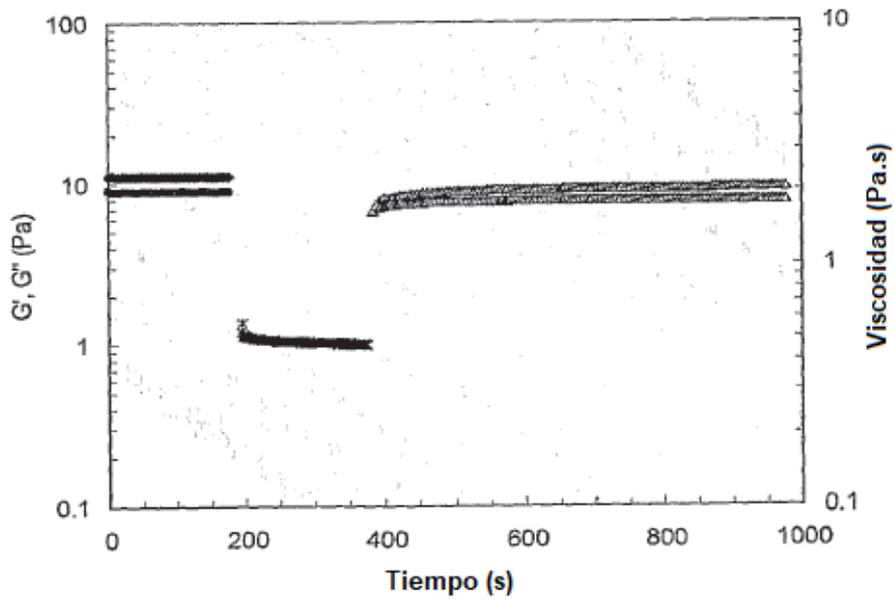


Fig 3b

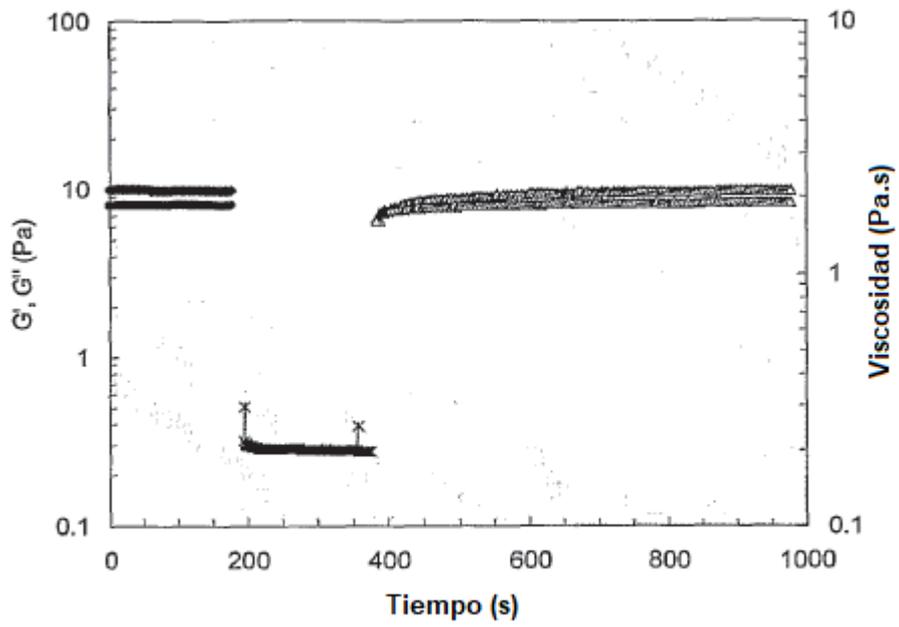


Fig 3c