

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 648 414**

51 Int. Cl.:

C08B 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.02.2013 PCT/EP2013/053087**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.08.2013 WO13121001**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.02.2013 E 13704450 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017 EP 2814848**

54 Título: **Sales de oro y plata de glicosaminoglicanos parcialmente despolimerizadas**

30 Prioridad:

17.02.2012 ES 201230247

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

02.01.2018

73 Titular/es:

**KIMFLEXOR, S.L. (100.0%)
Avda. Puig i Cadafalch 48 Ca24
08303 Mataró, ES**

72 Inventor/es:

**FLORES I SALGADO, FRANCESC;
BENÍTEZ JIMÉNEZ, ANTONIO, FRANCISCO;
COSTA I RIEROLA, MARGARITA;
FLORES I COSTA, ROGER y
FLORES I COSTA, LAIA**

74 Agente/Representante:

CONTRERAS PÉREZ, Yahel

ES 2 648 414 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

Sales de oro y plata de glicosaminoglicanos parcialmente despolimerizadas

5 La presente invención se refiere al campo de la farmacia y cosmética, en particular, se refiere a sales metálicas de glicosaminoglicanos parcialmente despolimerizadas. También se refiere a un procedimiento de preparación de dichas sales, a composiciones orales y tópicas farmacéuticas y cosméticas que las contienen, y sus usos farmacéuticos y cosméticos.

10 ESTADO DE LA TÉCNICA

Es conocido el uso de metales nobles como agentes antimicrobianos, en particular el uso de sales de plata simples, principalmente en la profilaxis y el tratamiento tópico de infecciones superficiales, especialmente de agentes patógenos. Sin embargo, la aplicación de las sales de plata se ha visto limitada debido a su inestabilidad estructural
15 inherente y/o fotosensibilidad, que conduce a dificultades de almacenamiento y/o a un oscurecimiento de color, lo que es un inconveniente estético considerable y limita su aplicación médica y cosmética.

También son conocidos derivados de glicosaminoglicanos de plata, entre otros metales. Por ejemplo, el documento US 2010317617 describe un material compuesto que comprende nanopartículas de plata conjugadas con un
20 glicosaminoglicano o glucosa, donde las nanopartículas de plata se encuentran envueltas por la matriz de glicosaminoglicano. Dichas nanopartículas pueden ser usadas como agentes antimicrobianos mediante aplicación tópica en heridas o quemaduras, y también para el recubrimiento de plástico, catéteres o utensilios quirúrgicos.

El documento WO 8705517 describe sales de metales pesados (incluyendo plata, oro, cerio y tungsteno) del ácido
25 hialurónico para su uso en la inhibición del crecimiento microbiano.

Finalmente, también se conoce del documento CN 1687141 que el condroitín sulfato de plata puede utilizarse para el tratamiento de quemaduras. El contenido de plata en la sal descrita en este documento es del 19 – 33%, el contenido de sodio es menor del 0,5% y el del nitrato menor de 100 ppm. Por otra parte, el documento EP 1878754
30 describe el uso de la sal de plata heparina y su uso para el tratamiento de quemaduras. El contenido de plata en la sal descrita en este documento es del 25 – 45%, el contenido de sodio es menor del 2,5% y el del nitrato menor del 0,1%.

Sin embargo, los derivados de plata y oro de glicosaminoglicanos descritos en los anteriores documentos no
35 presentan una estabilidad a la luz adecuada. Por lo tanto, existe la necesidad de encontrar productos derivados de glicosaminoglicanos que sean estables y que tengan una actividad antimicrobiana elevada.

RESUMEN DE LA INVENCION

40 Los inventores han encontrado que las sales metálicas de glicosaminoglicanos (GAG) parcialmente despolimerizadas, obtenibles mediante el procedimiento de la invención que comprende las etapas de despolimerización química, blanqueamiento e intercambio iónico, presentan una buena actividad antimicrobiana y son estables al ser expuestos a la luz, a diferencia de otras sales similares no despolimerizadas de alto peso
45 molecular.

Esta mejora en la estabilidad de las sales de la invención queda demostrada en los ejemplos, donde se compara la estabilidad a la luz de condroitín sulfato de plata parcialmente despolimerizado, preparado por el procedimiento de la presente invención, frente a condroitín sulfato de plata no despolimerizado, tal como por ejemplo el que se describe en el documento CN 1687141. Los resultados demuestran que el condroitín sulfato de plata parcialmente
50 despolimerizado es estable bajo exposición a la luz ambiental a diferencia del producto no despolimerizado.

Además, la aplicación tópica de las sales de la presente invención no presenta los efectos adversos de otras sales de plata conocidas como por ejemplo el nitrato de plata, y, por otro lado, también es útil para el tratamiento de una quemadura previamente existente, como se demuestra en los ejemplos. Así, mientras que el uso de nitrato de plata
55 produce irritación, picor y quemadura al ser aplicado en la piel, la aplicación tópica de las sales de glicosaminoglicanos parcialmente despolimerizadas de la presente invención es útil para curar una quemadura provocada por nitrato de plata.

Adicionalmente, las sales de glicosaminoglicanos parcialmente despolimerizadas de la presente invención también
60 tienen la ventaja de que poseen una viscosidad menor, en particular, con respecto a los productos no despolimerizados, y como consecuencia, una mejor absorción. Dicha mejor absorción conduciría a una mayor eficacia del producto, de manera que podría reducirse la dosis necesaria de producto.

Las sales de glicosaminoglicanos parcialmente despolimerizadas de la presente invención pueden definirse por su procedimiento de obtención. Tanto las sales como el procedimiento para su preparación se consideran parte de la invención y se explican con detalle a continuación.

- 5 Por tanto, un aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de una sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada, donde el metal es oro o plata, que comprende las siguientes etapas:
- a) despolimerización de una sal metálica de glicosaminoglicano de alto peso molecular; donde el metal es diferente de oro o plata, con un agente de despolimerización seleccionado del grupo que consiste en permanganato de potasio, hidróxido de sodio y peróxido de hidrógeno;
- 10 a') despolimerización del producto obtenido en la etapa a) con un agente de despolimerización seleccionado del grupo que consiste en permanganato de potasio, hidróxido de sodio y peróxido de hidrógeno;
- a'') despolimerización del producto obtenido en la etapa a') con un agente de despolimerización seleccionado del grupo que consiste en permanganato de potasio, hidróxido de sodio y peróxido de hidrógeno;
- 15 donde el agente de despolimerización de la etapa a) es permanganato de potasio, el agente de despolimerización de la etapa a') es hidróxido de sodio y el agente de despolimerización de la etapa a'') es peróxido de hidrógeno;
- b) blanqueamiento del producto obtenido en la etapa previa con peróxido de hidrógeno; y
- c) intercambio iónico del metal del producto obtenido en la etapa previa por oro o plata mediante el uso de una fuente de oro o plata.

20 La sal metálica de glicosaminoglicano de alto peso molecular de partida puede ser comercial o bien puede obtenerse a partir de procesos de extracción y purificación de tejidos orgánicos, como por ejemplo de tejidos cartilagosos, donde se encuentra la concentración más alta de GAGs. Estos pueden ser tráquea bovina, porcina, pollo, pato, nariz de vaca o de cerdo, escápula de vaca, patas de aves, aletas-cabeza-columna-cola de tiburón, mucosa intestinal de cerdo o vaca (en el caso de la heparina), crestas de pollo y piel de cerdo. Otras posibles fuentes de GAGs son ojos, venas, cordones umbilicales, etc. Dichos procesos de extracción y purificación de las sales metálicas de glicosaminoglicano de alto peso molecular son bien conocidos por el experto en la materia.

30 El metal de la sal de glicosaminoglicano de alto peso molecular es diferente de oro y plata, y puede ser sodio, potasio, calcio, zinc, magnesio, hierro, entre otros, preferiblemente sodio. El glicosaminoglicano puede ser condroitín sulfato, ácido hialurónico, dermatán sulfato, queratán sulfato, heparina o heparán sulfato, preferiblemente, condroitín sulfato o ácido hialurónico. En una realización preferida, la sal metálica de glicosaminoglicano de alto peso molecular se selecciona del grupo que consiste en condroitín sulfato sódico y hialuronato sódico.

35 La expresión "glicosaminoglicano de alto peso molecular" se refiere al glicosaminoglicano purificado que no ha experimentado ningún procedimiento de despolimerización. A efectos de la presente invención, las expresiones "glicosaminoglicano de alto peso molecular" y "glicosaminoglicano no despolimerizado" se utilizan indistintamente.

40 El peso molecular de la sal metálica de glicosaminoglicano de alto peso molecular dependerá del tipo de glicosaminoglicano utilizado y del tipo de metal. Por ejemplo, cuando el glicosaminoglicano de partida es condroitín sulfato, el peso molecular de la sal no despolimerizada está comprendido entre 10.000 – 50.000 Daltones; cuando el glicosaminoglicano de partida es ácido hialurónico, el peso molecular de la sal no despolimerizada está comprendido entre 50.000 – 2.500.000 Daltones; cuando el glicosaminoglicano de partida es dermatán sulfato, el peso molecular de la sal no despolimerizada está comprendido entre 20.000 – 30.000 Daltones; cuando el glicosaminoglicano de

45 partida es queratán sulfato, el peso molecular de la sal no despolimerizada está comprendido entre 5.000 – 10.000 Daltones; y cuando el glicosaminoglicano de partida es heparina o heparán, el peso molecular de la sal no despolimerizada está comprendido entre 3.000 – 30.000 Daltones.

50 En una realización preferida, la sal metálica de glicosaminoglicano de alto peso molecular es una sal de condroitín sulfato sódico de un peso molecular comprendido entre 10.000 – 50.000 Daltones o hialuronato sódico de un peso molecular comprendido entre 50.000 – 2.500.000 Daltones.

55 El procedimiento de despolimerización de la invención comprende al menos tres etapas de despolimerización, donde los agentes de despolimerización se seleccionan entre permanganato de potasio, hidróxido de sodio y peróxido de hidrógeno; una etapa de blanqueamiento y una etapa de intercambio iónico de metales. Estas etapas pueden llevarse a cabo de manera consecutiva, o bien, tras cada una de ellas, se puede llevar a cabo opcionalmente una etapa de purificación, que puede incluir el aislamiento del producto.

60 Una ventaja del procedimiento de despolimerización que comprende las tres etapas mencionadas anteriormente es que da lugar a productos que mantienen las propiedades de los productos no despolimerizados sin que se degraden, es decir los productos despolimerizados mantienen sus propiedades como por ejemplo, propiedades hidratantes, antiinflamatorias, reparación heridas, anticoagulantes, tratamiento sintomático de la artrosis/osteoporosis, etc.

Aunque la invención se refiere especialmente a una despolimerización química que comprende las tres etapas mencionadas anteriormente, la despolimerización también se podría llevar a cabo mediante otros procesos oxidativos o con enzimas específicas para cada glicosaminoglicano, tales como condroitinasas, hialuronidasas, 5 heparinasas, etc.

La etapa de despolimerización a) con permanganato de potasio comprende hacer reaccionar una sal de glicosaminoglicano de alto peso molecular, donde el metal es diferente de oro o plata, en un disolvente adecuado, preferiblemente agua.

10

En una realización preferida, la cantidad de permanganato de potasio está comprendida entre 5 – 30% en peso sobre la cantidad en peso de sal de glicosaminoglicano no despolimerizado inicial, más preferiblemente entre 10 – 25%, y más preferiblemente 20%. En otra realización preferida, esta reacción se lleva a cabo a un pH comprendido entre 7 – 10, más preferiblemente entre 8 – 9, y más preferiblemente 8,5. En otra realización preferida, la reacción se

15

lleva a cabo calentando, preferiblemente a una temperatura comprendida entre 60 – 95 °C, más preferiblemente entre 70 – 95 °C, y más preferiblemente 80 °C. En otra realización preferida, la reacción se lleva a cabo durante un periodo de tiempo adecuado, preferiblemente comprendido entre 0,5 – 2 h, más preferiblemente 1 h.

Opcionalmente, la solución obtenida tras la etapa de despolimerización con permanganato de potasio se puede 20 filtrar para eliminar impurezas sólidas.

La etapa de despolimerización a') con hidróxido de sodio comprende hacer reaccionar el producto obtenido en la etapa a), en un disolvente adecuado, preferiblemente agua.

25 En una realización particular, el hidróxido de sodio utilizado es acuoso, preferiblemente al 30% (peso/volumen). En otra realización preferida, la cantidad de hidróxido de sodio es la cantidad necesaria para ajustar el pH a un valor comprendido entre 8 – 11, más preferiblemente entre 9 – 11.

En una realización preferida, la etapa de despolimerización a') con hidróxido de sodio se lleva a cabo en presencia 30 de una sal inorgánica, tal como cloruro de sodio o de potasio. En una realización más preferida, la sal inorgánica es cloruro de sodio. En una realización más preferida, la cantidad de cloruro de sodio está comprendida entre 10 – 20% en peso sobre la cantidad en peso de sal de glicosaminoglicano no despolimerizado inicial, más preferiblemente entre 13 – 17%, más preferiblemente 15%. En otra realización preferida, la reacción se lleva a cabo calentando, preferiblemente a una temperatura comprendida entre 35 – 55 °C, más preferiblemente entre 40 – 50 °C, más 35 preferiblemente 45 °C. En otra realización preferida, la reacción se lleva a cabo durante un periodo de tiempo comprendido entre 6 – 15 h, más preferiblemente entre 10 – 12 h.

La etapa de despolimerización a'') con peróxido de hidrógeno comprende hacer reaccionar el producto obtenido en la etapa a'), en un disolvente adecuado, preferiblemente agua.

40

Cuando no se lleva a cabo el aislamiento del producto de la etapa a) y el producto se encuentra en solución, se puede llevar a cabo la etapa a') en el mismo disolvente de la etapa a), ajustando el pH si es necesario. Cuando no se lleva a cabo el aislamiento del producto de la etapa a') y el producto se encuentra en solución, se puede llevar a 45 cabo la etapa a'') en el mismo disolvente de la etapa a'), ajustando el pH si es necesario.

45

En una realización preferida, la cantidad de peróxido de hidrógeno en la etapa de despolimerización está comprendida entre 5 – 25% en peso sobre la cantidad en peso de sal de glicosaminoglicano no despolimerizado inicial, más preferiblemente entre 10 – 20 %, y más preferiblemente 15%. En otra realización preferida, esta reacción se lleva a cabo a un pH comprendido entre 9 – 11, más preferiblemente entre 10 – 11. En otra realización preferida, 50 la reacción se lleva a cabo a una temperatura adecuada, preferiblemente entre 20 – 35 °C, más preferiblemente entre 25 – 30 °C. En una realización particular, la reacción se lleva a cabo durante un periodo de tiempo comprendido entre 0,5 – 2 h, más preferiblemente 1 – 2 h.

El producto despolimerizado de la etapa a), a') o a'') puede purificarse opcionalmente antes de la etapa de 55 blanqueamiento. Dicha purificación puede comprender una filtración de la solución obtenida en la etapa previa para eliminar impurezas sólidas. Adicionalmente o alternativamente, la purificación puede incluir la precipitación del producto mediante disolventes orgánicos y aislamiento del mismo. En una realización preferida, la precipitación se lleva a cabo a un pH comprendido entre 5,0 – 7,5, más preferiblemente entre 5,5 – 6,0. El ajuste de pH se puede realizar por adición de un ácido como por ejemplo ácido acético, ácido clorhídrico o ácido sulfúrico. El disolvente 60 orgánico puede ser, entre otros, metanol, etanol, acetona o mezcla de los mismos. El aislamiento de la sal de oro o plata de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada, puede llevarse a cabo por ejemplo por filtración, decantación o centrifugación. En una realización particular, el disolvente orgánico utilizado para la precipitación de la sal es etanol o metanol.

La etapa de blanqueamiento se lleva a cabo haciendo reaccionar el producto obtenido en la etapa previa con peróxido de hidrógeno en un disolvente adecuado, preferiblemente agua. Cuando no se lleva a cabo el aislamiento del producto de la etapa previa y el producto se encuentra en solución, se puede llevar a cabo la etapa b) en el mismo disolvente de la etapa previa, ajustando el pH si es necesario.

En una realización preferida, la cantidad de peróxido de hidrógeno en la etapa de blanqueamiento está comprendida entre 45 – 60% en peso sobre la cantidad en peso de sal de glicosaminoglicano no despolimerizado inicial, más preferiblemente entre 50 – 60%, y más preferiblemente 50%. En otra realización preferida, esta reacción se lleva a cabo a un pH comprendido entre 5,0 – 7,5, más preferiblemente entre 5,5 – 6,0. En una realización particular, la reacción se lleva a cabo una temperatura adecuada, preferiblemente entre 20 – 45 °C, más preferiblemente entre 30 – 45 °C. En otra realización particular, la reacción se lleva a cabo durante un periodo de tiempo comprendido entre 5 – 15 minutos, más preferiblemente entre 10 – 15 minutos.

La etapa de intercambio iónico se lleva a cabo por reacción del producto obtenido en la etapa b) con una fuente de oro o plata en un disolvente adecuado, preferiblemente agua. En una realización preferida, la reacción se lleva a cabo bajo condiciones que eviten la oxidación de la plata o del oro, como por ejemplo la exposición a la luz. Cuando no se lleva a cabo el aislamiento del producto de la etapa b) y el producto se encuentra en solución, se puede llevar a cabo la etapa e) en el mismo disolvente de la etapa b).

La etapa de intercambio iónico se puede llevar a cabo en solución o con resinas de intercambio iónico. En una realización preferida, el intercambio iónico se lleva a cabo en solución. Como fuente de oro o plata puede utilizarse cualquier sal de oro o plata que sea soluble en el disolvente en el cual se lleva a cabo el intercambio iónico. En una realización particular, la sal de plata es nitrato de plata y la sal de oro es cloruro de oro. En una realización preferida, la cantidad de fuente de oro o plata para realizar el intercambio iónico se calcula considerando el contenido de ión metálico (por ejemplo, sodio, potasio, calcio, magnesio o zinc) en la sal de glicosaminoglicano de alto peso molecular de partida, y el contenido de oro o plata en la sal de oro o plata utilizada para la etapa c). En una realización preferida, la cantidad de fuente de oro o plata de la etapa c) es estequiométrica con respecto a la sal metálica de glicosaminoglicano de alto peso molecular. Por tanto, en este caso, se deberá conocer el contenido (%) de metal en la sal metálica de glicosaminoglicano de alto peso molecular de partida.

Por ejemplo, en el caso de preparar condroitín sulfato de plata (CS Ag) a partir de 2,5 g de condroitín sulfato de sodio (CS Na), que contiene un 6% de sodio, y nitrato de plata, el cálculo se realizaría de la siguiente manera:

35 % Na en CS Na utilizado: 6%
 % Ag necesaria en intercambio: 6%
 % Ag en AgNO₃: 63%

$$40 \frac{2,5 \text{ g (CS Na)} * 0,06 \text{ g (de Na)}}{0,63 \text{ g}} = 0,24 \text{ g AgNO}_3$$

Y en el caso de preparar condroitín sulfato de oro (CS Au) a partir de 2,5 g de condroitín sulfato de sodio (CS Na), que contiene un 6% de sodio, y cloruro de oro, el cálculo se realizaría de la siguiente manera:

50 % Au necesario en intercambio: 6%
 % Au en cloruro de oro: 49%

$$50 \frac{2,5 \text{ g (CS Na)} * 0,06 \text{ g (de Na)}}{0,49 \text{ g}} = 0,31 \text{ g cloruro de oro}$$

En el caso de utilizar otras sales de oro o plata u otros glicosaminoglicanos el cálculo se realizaría de manera análoga.

El producto de la etapa c) puede purificarse opcionalmente. Dicha purificación puede comprender una filtración de la solución obtenida en la etapa c) para eliminar impurezas sólidas. Adicionalmente o alternativamente, la purificación puede incluir la precipitación del producto mediante disolventes orgánicos y aislamiento del mismo, tal como se ha descrito anteriormente.

El producto opcionalmente purificado de la etapa c) puede secarse y envasarse bajo condiciones que eviten la oxidación de la plata o del oro, por ejemplo evitando su exposición a la luz.

Con respecto a las condiciones específicas para llevar a cabo en cada caso el procedimiento de preparación de las sales de oro o plata de glicosaminoglicanos parcialmente despolimerizadas, el experto sabrá cómo ajustar los parámetros de cada una de las etapas del procedimiento indicado anteriormente a la luz de la descripción y los ejemplos de la presente invención.

Además, la invención también se refiere a los productos obtenibles por el procedimiento descrito anteriormente. Así, otro aspecto de la invención se refiere a una sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada, donde el metal es oro o plata, obtenible por un procedimiento de preparación que comprende las etapas a), a'), a''), b), c) tal como se han definido anteriormente.

La expresión sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada "obtenible por el procedimiento" de la invención se utiliza aquí para definir la sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada mediante su procedimiento de obtención y se refiere al producto que puede obtenerse mediante el procedimiento de preparación que comprende las etapas a), a'), a''), b) y c) tal como se han definido anteriormente. A efectos de la invención las expresiones "obtenible", "obtenido" y expresiones similares equivalentes se utilizan indistintamente y, en cualquier caso, la expresión "obtenible" engloba la expresión "obtenido".

Los glicosaminoglicanos (GAGs) son polisacáridos sin ramificaciones que contienen repeticiones de una unidad de disacáridos que comprende un azúcar ácido y un amino azúcar. El amino azúcar puede ser D glucosamina (Glc) o D-galactosamina (Gal), en el que el grupo amino puede estar acetilado (Nac), y también puede llevar un grupo sulfato en el carbono 4 ó 6 o en un nitrógeno no acetilado. El azúcar ácido puede ser ácido D glucurónico (GlcUA), L-idurónico (IdUA) o galactosa (Gal).

Ejemplos de glicosaminoglicanos incluyen el condroitín sulfato, el ácido hialurónico, la heparina, el queratán sulfato, el dermatán sulfato, y el heparán sulfato.

El condroitín sulfato (CS) es un glicosaminoglicano que comprende disacáridos de N-acetilgalactosamina (GalNac) y ácido glucurónico (GlcUA). Los grupos hidroxilo de las posiciones 4 y 6 de la N acetilgalactosamina pueden estar sulfatados, dando lugar a dos isómeros: el condroitín 4-sulfato y el condroitín 6-sulfato.

El ácido hialurónico (HA) es un glicosaminoglicano que comprende disacáridos de N-acetilglucosamina (GlcNac) y ácido glucurónico (GlcUA).

La heparina es un glicosaminoglicano que comprende disacáridos de ácido glucurónico (GlcUA) o ácido L idurónico (IdUA) y N-acetilglucosamina (GlcNac). El heparán sulfato contiene una unidad repetitiva disacárida similar a la de la heparina pero tiene más grupos N-acetilo, menos grupos N-sulfato y un grado menor de grupos O-sulfato.

El queratán sulfato (KS) es un glicosaminoglicano que comprende disacáridos de galactosa (Gal) y N acetilglucosamina (GlcNac). El contenido de sulfato es variable pudiendo estar presente un éster sulfato en el carbono 6 tanto de la galactosa como de la hexosamina. Se conocen dos tipos diferente de queratán, el queratán sulfato I, aislado de la córnea, y el queratán sulfato II aislado del cartílago.

El dermatán sulfato (DS) es un glicosaminoglicano que comprende disacáridos de ácido L-idurónico (IdUA) y N-acetilgalactosamina (GalNac).

La expresión "glicosaminoglicano parcialmente despolimerizado" como se utiliza en esta invención se refiere al glicosaminoglicano que se ha sometido a un procedimiento de despolimerización de manera que el peso molecular del producto resultante de la despolimerización es inferior al peso molecular del producto de partida.

Preferiblemente, la expresión "glicosaminoglicano parcialmente despolimerizado" se refiere al glicosaminoglicano que se ha sometido a un procedimiento de despolimerización que comprende las etapas a''), a') y a'') tal como se han descrito anteriormente. Por ejemplo, en el caso de condroitín sulfato, el peso molecular de la sal de condroitín sulfato de alto peso molecular está comprendido entre 10.000 – 50.000 Daltones, mientras que la sal de condroitín sulfato de oro o plata parcialmente despolimerizada de la invención tiene un peso molecular comprendido entre 5.000 – 25.000 Daltones dependiendo del peso molecular del compuesto de partida y teniendo en cuenta que el peso molecular del producto parcialmente despolimerizado siempre será menor que el del producto no despolimerizado. En el caso del ácido hialurónico, el peso molecular de la sal de ácido hialurónico de alto peso molecular está comprendido entre 50.000 – 2.500.000 Daltones, mientras que el hialuronato de oro o plata parcialmente despolimerizado de la invención tiene un peso molecular comprendido entre 5.000 – 50.000 Daltones, dependiendo del peso molecular del compuesto de partida y teniendo en cuenta que el peso molecular del producto parcialmente despolimerizado siempre será menor que el del producto no despolimerizado.

En una realización preferida, el glicosaminoglicano de la sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada se selecciona del grupo que consiste en condroitín sulfato, ácido hialurónico, heparina, heparán sulfato, queratán sulfato, y dermatán sulfato. En una realización más preferida, el glicosaminoglicano es condroitín sulfato o ácido hialurónico.

5

En una realización preferida, la invención se refiere a una sal de plata de un glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada. En una realización más preferida, el glicosaminoglicano se selecciona del grupo que consiste en condroitín sulfato, ácido hialurónico, heparina, heparán sulfato, queratán sulfato, y dermatán sulfato. En una realización aún más preferida, el glicosaminoglicano se selecciona del grupo que consiste en condroitín sulfato y

10 ácido hialurónico.

En otra realización preferida, la invención se refiere a una sal de oro de un glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada. En una realización más preferida, el glicosaminoglicano se selecciona del grupo que consiste en condroitín sulfato, ácido hialurónico, heparina, heparán sulfato, queratán sulfato, y dermatán sulfato. En una

15

realización aún más preferida, el glicosaminoglicano se selecciona del grupo que consiste en condroitín sulfato y ácido hialurónico.

En otra realización preferida, el contenido de plata en peso en la sal de plata del glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada está comprendido entre 2 – 10%.

20

En otra realización preferida, el contenido de oro en peso en la sal de oro del glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada está comprendido entre 2 – 8%.

En otra realización preferida, la invención se refiere a condroitín sulfato de plata, caracterizado por una rotación específica comprendida entre $-12,0^{\circ}$ a $30,0^{\circ}$, más preferiblemente entre $-12,0^{\circ}$ to $-20,0^{\circ}$, entre $-20,0^{\circ}$ to $-30,0^{\circ}$, o entre $-15,0^{\circ}$ to $-25,0^{\circ}$, un contenido de plata en peso comprendido entre 6 – 10%, un peso molecular comprendido entre 5.000 – 25.000 Daltones y un pH comprendido entre 5,5 – 7,5 cuando se disuelve en agua en un 1% en peso.

25

En otra realización preferida, la invención se refiere a condroitín sulfato de oro, caracterizada por una rotación específica comprendida entre $-12,0^{\circ}$ a $30,0^{\circ}$, más preferiblemente entre $-12,0^{\circ}$ to $-20,0^{\circ}$, entre $-20,0^{\circ}$ to $-30,0^{\circ}$, o entre $-15,0^{\circ}$ to $-25,0^{\circ}$, un contenido de oro en peso comprendido entre 6 – 10%, un peso molecular comprendido entre 5.000 – 25.000 Daltones y un pH comprendido entre 5,5 – 7,5 cuando se disuelve en agua en un 1% en peso.

30

En otra realización preferida, la invención se refiere a hialuronato de plata, caracterizado por un contenido de plata en peso comprendido entre 2 – 8%, un peso molecular comprendido entre 5.000 – 50.000 Daltones y un pH comprendido entre 5,0 – 8,0 cuando se disuelve en agua en un 1% en peso.

35

En otra realización preferida, la invención se refiere a hialuronato de oro, caracterizado por un contenido de oro en peso comprendido entre 2 – 8%, un peso molecular comprendido entre 5.000 – 50.000 Daltones y un pH comprendido entre 5,0 – 8,0 cuando se disuelve en agua en un 1% en peso.

40

Las sales metálicas de glicosaminoglicanos parcialmente despolimerizadas de la presente invención pueden formar parte de una composición farmacéutica o cosmética. Así, otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica o cosmética que comprende una cantidad efectiva de la sal metálica de glicosaminoglicano

45

parcialmente despolimerizada definida anteriormente, junto con uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente o cosméticamente aceptables.

En una realización particular, la composición farmacéutica o cosmética de la invención es una composición oral.

50

En una realización particular, la composición comprende además arginina. En otra realización particular, la composición consiste en una cantidad efectiva de la sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada definida anteriormente, junto con uno o más excipientes o portadores. En otra realización particular,

55

la composición consiste en una cantidad efectiva de la sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada definida anteriormente y arginina junto con uno o más excipientes o portadores.

La expresión "cantidad efectiva" como se usa aquí, se refiere a la cantidad de producto que proporciona un efecto terapéutico o cosmético después de su aplicación. La cantidad efectiva que proporciona un efecto terapéutico

60

(también citada aquí como cantidad terapéuticamente efectiva) es la cantidad de un compuesto que, cuando se administra, es suficiente para prevenir el desarrollo de, o aliviar en cierto grado, uno o más de los síntomas de la enfermedad a la que se dirige. La dosis particular de compuesto administrado según esta invención puede variar

según las condiciones particulares que rodean el caso, incluyendo el compuesto administrado, la ruta de administración, la condición particular que se está tratando y consideraciones similares.

5 La expresión "excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables" se refiere a que los excipientes o portadores son adecuados para la preparación de composiciones para usos médicos o farmacéuticos. Cada componente debe ser farmacéuticamente aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición farmacéutica. Debe ser también apto para el uso en contacto con tejidos u órganos de humanos y animales sin demasiada toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

10 La expresión "excipientes o portadores cosméticamente aceptables" se refiere a que los excipientes o portadores son adecuados para la preparación de composiciones para uso cosmético. Cada componente debe ser cosméticamente aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición cosmética. Debe ser también apto para el uso en contacto con tejidos u órganos de humanos y animales sin demasiada
15 toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

Las formulaciones tópicas de la invención pueden ser aplicadas directamente sobre la piel o por otros métodos, por ejemplo encapsuladas en una matriz sensible a la temperatura y/o a la presión, en película o vehículo sólido soluble
20 en los fluidos corporales, y similares.

Ejemplos de composiciones tópicas incluyen cremas, geles, hidrogeles, apósitos, champús, tinturas, pastas, ungüentos, pomadas, polvos, formulaciones líquidas o semilíquidas y composiciones similares. La aplicación de dichas composiciones puede hacerse mediante aerosol p. ej. con un propelente, o sin propelente tal como en el caso
25 de un pulverizador de bomba, o bien en forma de gotas, lociones o como un semisólido. Además, también se pueden usar emplastos, vendajes, almohadillas de gasa y cubiertas similares, que contengan una cantidad adecuada de un ingrediente activo. En una realización particular, la composición tópica está en forma de polvo o hidrogel.

30 En una realización particular, la composición tópica es una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de la sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada tal como se ha definido anteriormente, junto con uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

En otra realización particular, la composición tópica es una composición cosmética que comprende una cantidad
35 efectiva de la sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada como se ha definido anteriormente, junto con uno o más excipientes o portadores cosméticamente aceptables.

Las composiciones tópicas definidas anteriormente comprenden excipientes o portadores farmacéuticos o
40 cosméticos apropiados para la administración tópica, incluyendo, agentes hidratantes, emolientes, emulsionantes, espesantes, humectantes, reguladores de pH, antioxidantes, conservantes, o mezclas de los mismos. Los excipientes o portadores utilizados tienen afinidad por la piel, son bien tolerados, son estables, y se utilizan en una cantidad adecuada para proporcionar la consistencia deseada y facilidad de aplicación.

Aunque la invención se refiere especialmente a formulaciones tópicas y orales, también forman parte de la presente
45 invención otras aplicaciones de las sales descritas anteriormente tales como la administración bucal, ótica, ocular, oftálmica e inyectable. Además, esta invención también se refiere a composiciones de las sales descritas anteriormente para aplicación en dispositivos médicos o para incorporación en una composición de recubrimiento.

Las sales de la presente invención son útiles en el tratamiento de heridas, cicatrices y quemaduras. También son
50 útiles en el tratamiento y/o prevención de infecciones microbianas y procesos inflamatorios de la piel, como por ejemplo acné y psoriasis.

Por tanto, otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de las sales metálicas de glicosaminoglicanos
parcialmente despolimerizadas descritas anteriormente para la preparación de un medicamento para el tratamiento
55 de heridas, cicatrices y quemaduras. Dicho aspecto también puede formularse como las sales metálicas de glicosaminoglicanos parcialmente despolimerizadas descritas anteriormente para el uso en el tratamiento de heridas, cicatrices y quemaduras. También forma parte de la invención un método para el tratamiento de heridas, cicatrices y quemaduras, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada descrita anteriormente, junto con excipientes o portadores
60 farmacéuticamente aceptables, en un paciente, incluido un ser humano.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de las sales metálicas de glicosaminoglicanos parcialmente despolimerizadas descritas anteriormente para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención

- de infecciones microbianas y procesos inflamatorios de la piel, incluyendo el acné y la psoriasis. Dicho aspecto también puede formularse como las sales metálicas de glicosaminoglicanos parcialmente despolimerizadas descritas anteriormente para el uso en el tratamiento y/o prevención de infecciones microbianas y procesos inflamatorios de la piel, incluyendo el acné y la psoriasis. También forma parte de la invención un método para el tratamiento y/o
- 5 prevención de infecciones microbianas y procesos inflamatorios de la piel, incluyendo el acné y la psoriasis, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada descrita anteriormente, junto con excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables, en un paciente, incluido un ser humano.
- 10 Las sales de la presente invención también son útiles en el campo cosmético para el cuidado de la piel, en particular como agentes hidratantes y como agentes regeneradores de la piel. En una realización particular, el cuidado de la piel comprende la mejora de al menos uno de los siguientes síntomas: aspereza, descamación, tirantez, sequedad de la piel, grietas, falta de elasticidad y envejecimiento.
- 15 En una realización particular, las sales de la invención se utilizan conjuntamente con arginina en los usos farmacéuticos y cosméticos indicados anteriormente.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Además, la palabra "comprende" incluye el caso "consiste en". Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención. Además, la presente invención cubre todas las posibles combinaciones de realizaciones particulares y preferidas aquí indicadas.

25 EJEMPLOS

Ejemplo 1: Condroitín sulfato de plata parcialmente despolimerizado

Despolimerización con KMnO_4

- 30 Se disolvió condroitín sulfato de sodio de peso molecular comprendido entre 25.000 y 40.000 Daltones (2,5 g) en agua (25 mL) bajo agitación. Se midió el volumen total y se ajustó el pH a 8,5 con NaOH 30% (peso/volumen). Una vez ajustado el pH, se calentó hasta una temperatura de 85 °C. Se añadió lentamente y bajo agitación KMnO_4 (20% en peso con respecto a la cantidad de glicosaminoglicano inicial). Se mantuvo la temperatura y la agitación durante
- 35 1 hora. Se filtró la solución a través de un filtro de 0,8 micras.

Despolimerización con NaOH

- Se ajustó el pH de la solución obtenida en la etapa anterior a 11 con NaOH 30% (peso/volumen). Se midió el
- 40 volumen de la solución obtenida y se añadió 1,5% de NaCl (sobre el volumen total) bajo agitación para asegurar la disolución. Se ajustó la temperatura a 45 °C. Se mantuvo la temperatura y agitación durante 12 horas.

Despolimerización con H_2O_2

- 45 Se dejó que la solución obtenida en la etapa anterior se enfriase hasta alcanzar una temperatura de 25 °C y se midió el volumen total. Se comprobó que el pH se encontraba entre 10 – 11. Se añadió lentamente y bajo agitación, 1,5% (peso/volumen) de H_2O_2 sobre el volumen total. Se mantuvo la agitación y la temperatura durante 1 hora. Se filtró la solución a través de un filtro de 0,8 micras. Se ajustó el pH a 6 con ácido acético (líquido filtrado).

50 Precipitación con disolventes

Se midió el volumen total del líquido filtrado obtenido en la etapa anterior. Se añadieron lentamente y bajo agitación, 3 volúmenes de etanol (sobre volumen medido anteriormente). Se agitó durante 15 minutos. Se paró la agitación y se dejó en reposo 3 h (hasta completa precipitación).

55

Blanqueamiento

- Se separó el precipitado obtenido mediante decantación. Se aseguró la máxima eliminación del disolvente residual. Una vez separado el precipitado, se disolvió con la misma cantidad de agua que en la etapa inicial de disolución. Se
- 60 agitó hasta asegurar la completa disolución. Una vez disuelto, se añadió lentamente y bajo agitación H_2O_2 30% (peso/volumen). La cantidad que se añadió fue 50% en peso sobre la cantidad en peso de glicosaminoglicano utilizado inicialmente (1,25 g H_2O_2). Se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos.

Intercambio iónico con sales de plata

Se añadió lentamente y bajo agitación, 0,24 g de nitrato de plata. Se agitó 5 minutos (hasta asegurar completa disolución y homogenización).

5

Precipitación con disolventes

Se midió el volumen total de la solución obtenida en la etapa anterior. Se añadió lentamente y bajo agitación, 3 volúmenes de etanol (sobre volumen medido anteriormente obtenido). Se dejó bajo agitación 15 minutos. Se paró la agitación y se dejó en reposo 3 h.

10

Deshidratación y secado

Se separó el precipitado mediante decantación. Se aseguró la máxima eliminación posible del disolvente residual. Una vez separado el precipitado, se añadió etanol sobre el precipitado. La cantidad a añadir fue: cantidad glicosaminoglicano utilizado inicialmente x 6 = cantidad de disolvente a añadir. Se agitó vigorosamente hasta que se aseguró la completa homogeneización. Se agitó durante 20 minutos. Se paró la agitación y se dejó en reposo 2 h. Se separó el precipitado mediante decantación y una posterior filtración del precipitado. Se aseguró la máxima eliminación del disolvente residual. Una vez separado el precipitado, se añadió etanol sobre el precipitado. La cantidad que se añadió fue: cantidad glicosaminoglicano utilizado inicialmente. x 6 = cantidad de disolvente añadida. Se agitó vigorosamente hasta que se aseguró la completa homogeneización. Se agitó durante 20 minutos. Se paró la agitación y se dejó en reposo un mínimo de 2 h. Se separó el precipitado mediante filtración. Se aseguró la máxima eliminación del disolvente residual. Una vez separado el precipitado, se secó en estufa a una temperatura de 75 °C hasta que la humedad del producto fue inferior a 10 % y se envasó en doble bolsa.

25

Ejemplo 2: Hialuronato de plata parcialmente despolimerizado

El producto deseado se obtuvo análogamente al procedimiento descrito en el ejemplo 1, partiendo de una disolución de hialuronato sódico con un peso molecular superior a 1.000.000 Daltones (2 g) en agua (145 mL). La cantidad añadida en la etapa de intercambio iónico fue de 0,13 g de nitrato de plata.

30

Ejemplo 3: Condroitín sulfato de oro parcialmente despolimerizado

El producto deseado se obtuvo análogamente al procedimiento descrito en el ejemplo 1, partiendo de una disolución de 1 g de condroitín sulfato de sodio de peso molecular comprendido entre 25.000 y 40.000 Da en agua (10 mL) y sustituyendo el nitrato de plata por cloruro de oro (0,12 g).

35

Ejemplo 4: Hialuronato de oro parcialmente despolimerizado

El producto deseado se obtuvo análogamente al procedimiento descrito en el ejemplo 1, partiendo de una disolución de hialuronato de sodio con un peso molecular superior a 1.000.000 Daltones (2 g) en agua (145 mL) y sustituyendo el nitrato de plata por cloruro de oro (0,16 g).

40

Ejemplo comparativo 5: Condroitín sulfato de plata parcialmente despolimerizado (agente blanqueante: metabisulfito de sodio)

El producto deseado se obtuvo análogamente al procedimiento descrito en el ejemplo 1, partiendo de una disolución de 1 g de condroitín sulfato de sodio de peso molecular comprendido entre 25.000 y 40.000 Da en agua (10 mL) y sustituyendo el peróxido de hidrógeno de la etapa de blanqueamiento por metabisulfito de sodio (0,5 g).

50

Ejemplo comparativo 6: Condroitín sulfato de plata parcialmente despolimerizado (agente blanqueante: tiosulfato de sodio)

El producto deseado se obtuvo análogamente al procedimiento descrito en el ejemplo 1, partiendo de una disolución de 1 g de condroitín sulfato de sodio de peso molecular comprendido entre 25.000 y 40.000 Da en agua (10 mL) y sustituyendo el peróxido de hidrógeno de la etapa de blanqueamiento por tiosulfato de sodio (0,1 g).

55

Ejemplo comparativo 7: Condroitín sulfato de plata parcialmente despolimerizado (sin etapa de blanqueamiento)

El producto deseado se obtuvo análogamente al procedimiento descrito en el ejemplo 1, pero llevando a cabo la etapa de despolimerización con H₂O₂ a pH 7 y sin llevar a cabo la etapa de blanqueamiento.

60

Ejemplo comparativo 8: Condroitín sulfato de plata de alto peso molecular

Se disolvió condroitín sulfato de sodio con un peso molecular entre 25.000 y 40.000 Da (1 g) en agua (10 mL) y bajo agitación. Se midió el volumen total y se ajustó el pH a 6 con NaOH 30% (peso/volumen). Se añadió lentamente y bajo agitación, 0,1 g de nitrato de plata. Se agitó 5 minutos (hasta asegurar completa disolución y homogenización).

- 5 Se midió el volumen total. Se añadió lentamente y bajo agitación, 2 volúmenes de etanol (sobre volumen medido anteriormente obtenido). Se dejó bajo agitación 10 minutos. Se paró la agitación y se dejó en reposo 3 h.

Ejemplo comparativo 9: Hialuronato de plata de alto peso molecular

- 10 Se disolvió hialuronato de sodio con un peso molecular superior a 1.000.000 Daltones (2 g) en agua (145 mL) y bajo agitación. Se midió el volumen total y se ajustó el pH a 6 con NaOH 30% (peso/volumen). Se añadió lentamente y bajo agitación, 0,1 g de nitrato de plata. Se agitó un 5 minutos (hasta asegurar completa disolución y homogenización). Se midió el volumen total. Se añadió lentamente y bajo agitación, 2 volúmenes de etanol (sobre volumen medido anteriormente obtenido). Se dejó bajo agitación 10 minutos. Se paró la agitación y se dejó en reposo un 3 h.

Ensayo de estabilidad

- Los productos precipitados obtenidos en el ejemplo 1 y los ejemplos comparativos 5 – 8, se resguardaron en la oscuridad (dentro de un armario) durante 1 hora. Transcurrido este tiempo, se realizó un control visual de los productos y los productos se volvieron a resguardar en la oscuridad. Después de 12 horas, se realizó otro control visual de los productos. A continuación, los productos se expusieron a la luz ambiental. Transcurridas 5 horas, se realizó un control visual de los productos.
- 25 Los resultados mostraron que para el producto del ejemplo 1, que incluía la etapa de despolimerización y etapa de blanqueamiento con hidrógeno de peróxido, el color era blanco tanto al cabo de 1 hora en la oscuridad como al cabo de 12 horas en la oscuridad, y permanecía blanco al cabo de 5 horas de exposición a la luz ambiental. En el caso del producto del ejemplo comparativo 5, que incluía la etapa de despolimerización y etapa de blanqueamiento con metabisulfito de sodio, el color era rojizo al cabo de 1 hora en la oscuridad, de rojizo a negro al cabo de 12 horas en la oscuridad, y negro al cabo de 5 horas de exposición a la luz ambiental.
- 30 En el caso del producto del ejemplo comparativo 6, que incluía la etapa de despolimerización y etapa de blanqueamiento con tiosulfato de sodio, el color era negro tanto al cabo de 1 hora en la oscuridad como al cabo de 12 horas en la oscuridad, y permanecía negro al cabo de 5 horas de exposición a la luz ambiental. En el caso del producto del ejemplo comparativo 7, que incluía la etapa de despolimerización pero no etapa de blanqueamiento, el color era blanco al cabo de 1 hora en la oscuridad
- 35 y al cabo de 12 horas en la oscuridad, pero era rojo oscuro después de 5 horas de exposición a la luz ambiental. Finalmente, para el producto del ejemplo comparativo 8, que no incluía ni etapa de despolimerización ni etapa de blanqueamiento, el color era blanco al cabo de 1 hora en la oscuridad y al cabo de 12 horas en la oscuridad, pero era rojo oscuro después de 5 horas de exposición a la luz ambiental.
- 40 De los resultados obtenidos se desprende que el producto de la invención (ejemplo 1) presenta una mejora importante en la estabilidad ya que se mantiene estable durante 5 h al ser expuesto a la luz ambiental, en particular, en comparación con el producto del estado de la técnica descrito en CN 1687141 (ejemplo comparativo 8). Por otra parte, se observa que cuando se varía alguna de las condiciones del procedimiento de obtención de las sales parcialmente despolimerizadas (como por ejemplo cuando se cambia el agente blanqueante o no se realiza etapa de
- 45 blanqueamiento) el producto resultante tampoco es estable a la luz en un periodo de 5 h.

Ensayo de actividad antimicrobiana

- El objetivo de la prueba fue verificar la actividad antimicrobiana con los microorganismos *E. Coli* y *S. Aureus*. Para ello, se prepararon separadamente disoluciones en agua de los siguientes productos:
- 50 - Condroitín sulfato de sodio de origen marino comercial con un peso molecular entre 25.000 y 40.000 Daltones. Producto descrito en Pharmacopea Europea (01/2009:2064) (ejemplo comparativo 10);
- Condroitín sulfato de plata de alto peso molecular (ejemplo comparativo 8);
- Condroitín sulfato de plata parcialmente despolimerizado (ejemplo 1);
- 55 - Hialuronato de plata de alto peso molecular (ejemplo comparativo 9);
- Hialuronato de plata parcialmente despolimerizado (ejemplo 2);
- AgNO₃ (ejemplo comparativo 11);
- Condroitín sulfato de oro parcialmente despolimerizado (ejemplo 3);
- Hialuronato de oro parcialmente despolimerizado (ejemplo 4); y
- 60 - Mezcla de 1 g de condroitín sulfato de sodio de origen marino comercial con un peso molecular entre 25.000 y 40.000 Daltones y 0,1 g de AgNO₃ (ejemplo comparativo 12).

Los productos derivados de condroitín sulfato se disolvieron al 10% (peso/volumen). Los productos derivados de ácido hialurónico se disolvieron al 1,4% (peso/volumen). Para el resto de productos se añadió agua hasta su completa disolución.

- 5 Se aplicó cada uno de los productos, así como también un control (agua), a una placa con *S. Aureus* y *E. Coli*. Los productos se incubaron bajo condiciones estándar para *S. Aureus* y *E. Coli*. Los resultados se expresaron en diámetro de aureola o halo y fueron los siguientes: para el ejemplo comparativo 10 se obtuvo 0 en *E. Coli* y 0 en *S. Aureus*; para el ejemplo comparativo 8 se obtuvo 7 en *E. Coli* y 8 en *S. Aureus*; para el ejemplo 1 se obtuvo 7 en *E. Coli* y 6 en *S. Aureus*; para el ejemplo comparativo 9 se obtuvo 8 en *E. Coli* y 8 en *S. Aureus*; para el ejemplo 2 se obtuvo 7 en *E. Coli* y 6 en *S. Aureus*; para el ejemplo comparativo 11 se obtuvo 8 en *E. Coli* y 6 en *S. Aureus*; para el ejemplo 3 se obtuvo 9 en *E. Coli* y 8 en *S. Aureus*; para el control se obtuvo 0 en *E. Coli* y 0 en *S. Aureus*; para el ejemplo 4 se obtuvo 4 en *E. Coli* y 6 en *S. Aureus*; y para el ejemplo comparativo 12 se obtuvo 7 en *E. Coli* y 5 en *S. Aureus*.
- 10
- 15 Los resultados obtenidos confirmaron que los productos de la invención con oro (ejemplos 3 y 4) y plata (ejemplos 1 y 2) presentan una actividad antimicrobiana similar al nitrato de plata.

Ensayo preliminar de toxicología y efectividad en quemaduras

- 20 El objetivo de esta prueba fue evaluar la toxicidad (tópica) y efectividad en quemaduras. Se evaluaron por control visual y fotografías los efectos secundarios que podían causar los diferentes productos incluyendo irritación, inflamación y/o oscurecimiento. Los productos que se evaluaron fueron los siguientes:
- Condroitín sulfato de sodio de origen marino comercial con un peso molecular entre 25.000 y 40.000 Daltones.
- 25 Producto descrito en Pharmacopea Europea (01/2009:2064) (ejemplo comparativo 10);
- Condroitín sulfato de plata parcialmente despolimerizado (ejemplo 1);
 - Condroitín sulfato de plata parcialmente despolimerizado disuelto/mezclado en una crema hidratante (ejemplo 1c);
 - Hialuronato de plata parcialmente despolimerizado (ejemplo 2);
 - AgNO₃ (ejemplo comparativo 11); y
- 30 - Condroitín sulfato de oro parcialmente despolimerizado (ejemplo 3).

Los productos derivados de condroitín sulfato se disolvieron en agua al 10% (peso/volumen). Los productos derivados de ácido hialurónico se disolvieron al 1,4% (peso/volumen). Para el nitrato de plata se añadió agua hasta su completa disolución. El producto del ejemplo 1c se mezcló con una crema hidratante.

- 35 Todos los productos se aplicaron en la "zona alta del brazo" (parte superior bíceps) y en el abdomen (zona de las costillas). Los productos de los ejemplos 1, 2 y 3 se aplicaron además en la "zona baja del brazo". Los controles visuales se llevaron a cabo con la siguiente periodicidad después de la aplicación: 10 minutos, 30 minutos, 60 minutos, 8 h, 3 días, 4 días, 7 días y 9 días.
- 40 Las zonas tratadas se expusieron a diferentes tipos de luz (solar, bombilla incandescente, fluorescente) durante 10 minutos. No se observó oscurecimiento en ningún caso. El abdomen se protegió de la luz a partir de los 10 minutos. La "zona alta del brazo" se dejó en exposición de luz hasta las 8 horas. La "zona baja del brazo" tuvo una exposición continua a la luz ambiental.
- 45 Según los resultados obtenidos, en la aplicación del producto del ejemplo comparativo 10 se observó una apariencia caramelizada tanto en "zona alta del brazo" como en el abdomen a los 10 minutos y a los 30 minutos. En los controles realizados a 60 minutos, 8 horas, 24 horas, 48 horas, 3 días, 4 días, 7 días y 9 días, no se observaron resultados relevantes en ninguna de las partes ("zona alta del brazo"/abdomen).
- 50 La aplicación del producto de los ejemplos 1, 1c, 2 y 3 no mostró comportamiento relevante en ninguna de las zonas donde se aplicó el producto en ninguno de los controles realizados a 10 minutos, 30 minutos, 60 minutos, 8 horas, 24 horas, 48 horas, 3 días, 4 días, 7 días y 9 días.
- 55 En la aplicación del producto del ejemplo comparativo 11 se observó una irritación tanto en "zona alta del brazo" como en el abdomen a los 10 minutos y a los 30 minutos. Al cabo de 60 minutos, se observó irritación, picor y quemadura en las partes donde se aplicó el producto. Al cabo de 8 horas, se observó irritación, picor, quemadura y una aureola o halo. Al cabo del tercer día, se observó un aumento del diámetro de la aureola de la quemadura. En este momento, se aplicó el producto del ejemplo 1 a la quemadura del abdomen. Se realizaron 2 aplicaciones diarias del producto del ejemplo 1 a la quemadura durante los 3 siguientes días. Al cabo del cuarto día se observó un aumento del diámetro de la aureola de la quemadura en el "zona alta del brazo" y una desaparición casi completa de la quemadura tratada con el ejemplo 1 en el abdomen. Al cabo del séptimo día aumentó el diámetro de la aureola de la quemadura en "zona alta del brazo". En este momento, se aplicó el producto del ejemplo 2 a la quemadura de la
- 60

“zona alta del brazo”. Se realizaron 3 aplicaciones diarias del producto del ejemplo 2 a la quemadura. Al cabo del noveno día, la quemadura tratada con el producto ejemplo 2 de la en "zona alta del brazo" casi había desaparecido completamente.

- 5 De acuerdo con los resultados obtenidos, y a diferencia del nitrato de plata, los productos de los ejemplos 1, 1c, 2 y 3 de la invención no presentaron problemas de oscurecimiento, irritaciones, picor o inflamación. Además, las pruebas de eficacia realizadas con los productos de los ejemplos 1 y 2 de la invención confirmaron que producen una mejoría en el tratamiento de superficies de piel con quemaduras o heridas.

10 Ensayo de toxicidad aguda oral

Se realizó un ensayo de toxicidad aguda oral del producto condroitín sulfato de plata parcialmente despolimerizado (ejemplo 1) para evaluar la toxicidad oral e identificar su correspondiente clasificación (GHS- Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures). El estudio se realizó de acuerdo a la guía OECD

- 15 n°420 (dosis fija). Los resultados obtenidos interpretados de acuerdo con esta guía indicaron que el producto Condroitin Sulfato de plata parcialmente despolimerizado tenía una dosis letal oral (LD50)>2000/kg y se puede incluir en la clasificación 5 del GHS (Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures), es decir en el grupo que presenta menos toxicidad”

20 Ensayo de absorción

Se realizó un ensayo comparativo de la absorción que presentan los compuestos despolimerizados de la invención con compuestos no despolimerizados. Para ello, se disolvieron separadamente condroitín sulfato de plata parcialmente despolimerizado (ejemplo 1) y condroitín sulfato de plata de alto peso molecular (ejemplo comparativo

- 25 8) con agua a la misma concentración (10% en peso/volumen). Una vez se aseguró que los productos estaban completamente disueltos se observó que la viscosidad del producto del ejemplo 1 era inferior a la del producto del ejemplo comparativo 8. Se aplicó 10 mL de cada producto sobre papel de celulosa. Se observó que el producto del ejemplo 1 quedaba absorbido más rápidamente que el producto del ejemplo comparativo 8. Teniendo en cuenta que, a efectos de absorción, el comportamiento sobre papel de celulosa es “extrapolable” a tejidos orgánicos (piel), con este resultado, se concluye que el producto despolimerizado de la invención tiene una mejor absorción que el
- 30 producto sin despolimerizar.

Ensayo de viscosidad

- 35 El objetivo de la prueba fue verificar que la viscosidad de los productos parcialmente despolimerizados obtenidos es inferior al de los productos de partida (sin despolimerizar). Los productos evaluados fueron los siguientes:

- Condroitín sulfato de plata de alto peso molecular (ejemplo comparativo 8);
- Condroitín sulfato de plata parcialmente despolimerizado (ejemplo 1);
- Hialuronato de plata de alto peso molecular (ejemplo comparativo 9) y

- 40 - Hialuronato de plata parcialmente despolimerizado (ejemplo 2).

Se evaluaron los parámetros siguientes: tiempo de disolución, apariencia (método visual) y tiempo de desplazamiento.

- 45 Se disolvieron separadamente 0,01 g de cada uno producto en 0,5 mL de agua destilada en tubos de ensayo de 11,5 cm de longitud y 1 cm de diámetro. Una vez los productos estuvieron completamente disueltos, se invirtió la posición de los tubos para comprobar el tiempo de desplazamiento.

Control de disolución: Los productos parcialmente despolimerizados se disolvieron en menos de 10 segundos, mientras que los productos no despolimerizados tardaron más de 3 minutos a disolverse. Por tanto, se concluye que la disolución de los productos parcialmente despolimerizados es más rápida que la de los productos no despolimerizados, lo que confiere a los productos parcialmente despolimerizados la ventaja de ser más fácilmente aplicables y manipulables.

- 55 Control de apariencia: Al invertir la posición de los tubos (giro de 180°), se apreció visualmente que la viscosidad de las soluciones de los productos parcialmente despolimerizados era claramente inferior a la de las soluciones de los productos no despolimerizados.

- Control de desplazamiento: Al invertir la posición de los tubos (giro de 180°), se midió el tiempo de desplazamiento con los siguientes resultados: el tiempo de desplazamiento del ejemplo comparativo 8 fue 30 segundos; el tiempo de desplazamiento del ejemplo 1 fue 1 segundo; el tiempo de desplazamiento del ejemplo comparativo 9 fue 5 minutos; y finalmente, el tiempo de desplazamiento del ejemplo 2 fue 1 segundo.
- 60

De forma cualitativa se concluye que los pesos moleculares de los productos parcialmente despolimerizados son sustancialmente inferiores de los productos no despolimerizados, considerando la relación entre la viscosidad y el peso molecular. Uno de los métodos que se utilizan para la determinación de peso molecular de glicosaminoglicanos es mediante la comprobación de la viscosidad intrínseca y determinación del peso molecular mediante la constante/relación de Mark-Houwink.

REFERENCIAS CITADAS

- US 2010317617
- 10 - CN 1687141
- EP 1878754
- WO 8705517

Control de disolución: Los productos parcialmente despolimerizados se disolvieron en menos de 10 segundos, mientras que los productos no despolimerizados tardaron más de 3 minutos a disolverse. Por tanto, se concluye que la disolución de los productos parcialmente despolimerizados es más rápida que la de los productos no despolimerizados, lo que confiere a los productos parcialmente despolimerizados la ventaja de ser más fácilmente aplicables y manipulables.

20 Control de apariencia: Al invertir la posición de los tubos (giro de 180°), se apreció visualmente que la viscosidad de las soluciones de los productos parcialmente despolimerizados era claramente inferior a la de las soluciones de los productos no despolimerizados.

Control de desplazamiento: Al invertir la posición de los tubos (giro de 180°), se midió el tiempo de desplazamiento con los siguientes resultados: el tiempo de desplazamiento del ejemplo comparativo 8 fue 30 segundos; el tiempo de desplazamiento del ejemplo 1 fue 1 segundo; el tiempo de desplazamiento del ejemplo comparativo 9 fue 5 minutos; y finalmente, el tiempo de desplazamiento del ejemplo 2 fue 1 segundo.

De forma cualitativa se concluye que los pesos moleculares de los productos parcialmente despolimerizados son sustancialmente inferiores de los productos no despolimerizados, considerando la relación entre la viscosidad y el peso molecular. Uno de los métodos que se utilizan para la determinación de peso molecular de glicosaminoglicanos es mediante la comprobación de la viscosidad intrínseca y determinación del peso molecular mediante la constante/relación de Mark-Houwink.

REFERENCIAS CITADAS

- US 2010317617
- CN 1687141
- EP 1878754
- 40 - WO 8705517

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de preparación de una sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada, donde el metal es oro o plata, que comprende las siguientes etapas:
- 5 a) despolimerización de una sal metálica de glicosaminoglicano de alto peso molecular; donde el metal es diferente de oro o plata, con un agente de despolimerización seleccionado del grupo que consiste en permanganato de potasio, hidróxido de sodio y peróxido de hidrógeno;
- 10 a') despolimerización del producto obtenido en la etapa a) con un agente de despolimerización seleccionado del grupo que consiste en permanganato de potasio, hidróxido de sodio y peróxido de hidrógeno;
- a'') despolimerización del producto obtenido en la etapa a') con un agente de despolimerización seleccionado del grupo que consiste en permanganato de potasio, hidróxido de sodio y peróxido de hidrógeno; donde el agente de despolimerización de la etapa a) es permanganato de potasio, el agente de despolimerización de la etapa a') es hidróxido de sodio y el agente de despolimerización de la etapa a'') es peróxido de hidrógeno;
- 15 b) blanqueamiento del producto obtenido en la etapa previa con peróxido de hidrógeno; y
- c) intercambio iónico del metal del producto obtenido en la etapa previa por oro o plata mediante el uso de una fuente de oro o plata.
2. El procedimiento según la reivindicación 1, donde la cantidad de permanganato de potasio está comprendida entre 5 – 30% en peso sobre la cantidad en peso de sal metálica de glicosaminoglicano de alto peso molecular.
3. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde la despolimerización con hidróxido de sodio se lleva a cabo en presencia de cloruro de sodio en una cantidad que está comprendida entre 10 – 20% en peso sobre la cantidad en peso de sal metálica de glicosaminoglicano de alto peso molecular.
- 25 4. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde en la etapa de despolimerización con peróxido de hidrógeno, la cantidad de peróxido de hidrógeno está comprendida entre un 5 – 25% en peso sobre la cantidad en peso de sal metálica de glicosaminoglicano de alto peso molecular.
- 30 5. Sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada, donde el metal es oro o plata, obtenible por el procedimiento de preparación según cualquiera de las reivindicaciones 1– 4.
6. La sal metálica de glicosaminoglicano según la reivindicación 5, donde el glicosaminoglicano se selecciona del grupo que consiste en condroitín sulfato, ácido hialurónico, heparina, heparán sulfato, queratán sulfato y dermatán sulfato.
- 35 7. Composición farmacéutica o cosmética que comprende una cantidad efectiva de la sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada definida en cualquiera de las reivindicaciones 5 a 6, junto con uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente o cosméticamente aceptables.
- 40 8. Composición farmacéutica o cosmética según la reivindicación 7, que es una composición oral o tópica.
9. Composición farmacéutica o cosmética que es una composición tópica según la reivindicación 8, la cual se encuentra en forma de polvo o hidrogel.
- 45 10. Composición farmacéutica o cosmética según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, que además comprende arginina.
11. Sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada definida en cualquiera de las reivindicaciones 5 a 6, para uso en el tratamiento de heridas, cicatrices y quemaduras.
- 50 12. Sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada definida en cualquiera de las reivindicaciones 5 a 6, para uso en el tratamiento y/o prevención de infecciones microbianas y procesos inflamatorios de la piel.
- 55 13. Sal metálica de glicosaminoglicano parcialmente despolimerizada para uso según la reivindicación 12, donde el proceso inflamatorio de la piel es acné o psoriasis.
14. Uso de la composición cosmética tópica definida en cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10, para el cuidado no terapéutico de la piel.
- 60 15. Uso según la reivindicación 14, donde el cuidado de la piel comprende la mejora de al menos uno de los siguientes síntomas: aspereza, descamación, tirantez, sequedad, grietas, falta de elasticidad y envejecimiento.

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citadas por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de la patente europea. A pesar del cuidado tenido en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO niega toda responsabilidad en este sentido.

Documentos de patentes citados en la descripción

10

- **US 2010317617**
- **CN 1687141**
- **EP 1878754**
- **WO 8705517**

15