

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 729 301**

51 Int. Cl.:

A61L 27/18	(2006.01)
A61L 27/52	(2006.01)
A61L 27/24	(2006.01)
A61L 27/22	(2006.01)
A61L 27/20	(2006.01)
A61L 27/26	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.09.2015 PCT/IB2015/056740**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.03.2016 WO16042434**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.09.2015 E 15778723 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 3193952**

54 Título: **Composición que contiene glucosaminoglicanos y proteínas**

30 Prioridad:

18.09.2014 WO PCT/IB2014/064631
04.06.2015 WO PCT/IB2015/054225

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.10.2019

73 Titular/es:

CHONDRONEST SA (100.0%)
route des Eterpys 22
1964 Conthey

72 Inventor/es:

SCHWITZGUÉBEL, THIERRY

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 729 301 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

Composición que contiene glucosaminoglicanos y proteínas

Campo de la invención

- 5 La invención se refiere de manera general a composiciones que contienen glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados o glucosaminas, químicamente modificados o no, y proteínas, proteínas parcialmente hidrolizadas o péptidos, químicamente modificados o no, tal como por ejemplo, colágenos.

Estado de la técnica

- 10 La formulación de composiciones homogéneas que contienen glucosaminoglicanos altamente hidrofílicos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados o glucosaminas, químicamente modificados o no, y proteínas, proteínas parcialmente hidrolizadas o péptidos, químicamente modificados o no, proporciona sólidos viscoelásticos o semisólidos con propiedades mecánicas limitadas y propiedades limitadas para usos biológicos, farmacológicos o medicinales.

- 15 La patente WO 97/19701 A2 describe un conjugado covalente que comprende un glucosaminoglicano unido a una proteína mediante un enlace covalente en donde dicha proteína comprende al menos principalmente un grupo amino, en donde dichas especies se unen covalentemente de manera directa mediante dicho grupo amino a un residuo de aldosa terminal de dicho glucosaminoglicano. El enlace covalente se selecciona del grupo que consiste en: (a) un grupo $-HC=N-$ que se forma entre dicho grupo amino y el grupo carbonilo C1 de dicho residuo de aldosa terminal; y (b) un grupo $-CH_2-NH-$ entre dicho grupo amino y el grupo carbonilo C1 de dicho residuo de aldosa terminal.

20 Descripción general de la invención

Los problemas que se mencionan en el capítulo anterior pueden resolverse con la composición según la presente invención.

- 25 A este efecto, la composición según la invención comprende un polihidroxiuretano, un glucosaminoglicano, un glucosaminoglicano parcialmente hidrolizado o glucosamina, químicamente modificados o no, y proteínas, proteínas parcialmente hidrolizadas o péptidos, químicamente modificados o no. El polihidroxiuretano se obtiene mediante un acoplamiento covalente de funciones químicas de carbonatos cíclicos (CC) y poliaminas (PA).

- 30 Preferiblemente, la composición que se obtiene mediante la polimerización o formación de unión covalente de una preparación que contiene moléculas con grupos funcionales de policarbonatos cíclicos y glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados o glucosaminas, o químicamente modificados o no con una preparación que contiene moléculas con grupos funcionales de poliaminas, proteínas, proteínas parcialmente hidrolizadas o péptidos, químicamente modificados o no. Los glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados o glucosaminas y las proteínas, parcialmente hidrolizadas o no, o los péptidos pueden modificarse químicamente con los constituyentes de los polihidroxiuretanos.

- 35 Los glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados o glucosaminas, químicamente modificados con monómeros o prepolímeros de los polihidroxiuretanos pueden unirse covalentemente a proteínas, proteínas parcialmente hidrolizadas o péptidos, químicamente modificados o no con monómeros o prepolímeros de los polihidroxiuretanos para dar nuevas composiciones con propiedades físicas, biológicas, farmacológicas o medicinales innovadoras.

- 40 En la presente descripción, la composición puede usarse en varias aplicaciones tal como la preparación de microgel o micropartículas para administrar sustancias farmacéuticas activas o para brindar apoyo a células vivas, o para el tratamiento de superficies en contacto con materiales vivos, o para el tratamiento de superficies para proporcionarles afinidades específicas con respecto a polisacáridos, proteínas, proteínas parcialmente hidrolizadas y péptidos, o con respecto a proteínas químicamente modificadas, proteínas parcialmente hidrolizadas y péptidos para proporcionarles propiedades físicas, biológicas, farmacológicas o medicinales nuevas o la reconstrucción y la sustitución de matriz extracelular in vitro o in vivo.

- 45 La matriz extracelular constituye la parte no celular que se presenta en todos los tejidos y órganos. Sus funciones se relacionan esencialmente con su estructura y sus propiedades físicas pero también lo hacen con su composición química y sus constituyentes esenciales y sus funciones biomecánicas.

- 50 Fundamentalmente, la matriz extracelular (ECM) se constituye de agua, proteínas y polisacáridos. Cada ECM procesa una composición bioquímica única que tiene en común la presencia esencial de proteínas que exhiben diversas conformaciones tales como la estructura fibrilar de colágenos, y glucosaminoglicanos que forman geles hidratados. Los colágenos y las otras proteínas fibrilares son esencialmente hidrofóbicas en las condiciones hemostáticas de la ECM, mientras que los glucosaminoglicanos son fuertemente hidrofílicos. La reconstrucción in vitro e in vivo de una ECM, sobre la base de aquellas dos familias de sustancias esenciales, con las características mecánicas adecuadas
- 55 en condiciones biocompatibles constituye una de las aplicaciones de esta formulación innovadora.

Cuando la ECM se daña o se destruye debido a diferentes afecciones o traumas, o cuando se ha deformado, o ha desaparecido de manera parcial o total debido a procesos que se asocian con la edad, traumas, o erosión, existen actualmente técnicas para reconstruirla o reemplazarla.

5 Aquellas técnicas pueden clasificarse en tres familias generales:

- El uso de implantes y prótesis biocompatibles sin relación con respecto a la composición original de la ECM y sin células vivas.

- El uso de implantes y andamios mecánicos biocompatibles sobre la base de composiciones con relación limitada con respecto a la composición original de la EMC, pero permitiendo que las células vivas proliferen en la EMC mimética.

10 - Injertos autólogos sobre la base de la extracción de ECM saludable y funcional del paciente para reconstruir las partes dañadas.

Aquellas técnicas se usan ampliamente pero todas conllevan sus propias desventajas bien conocidas tales como:

- Los traumas de operación fuertes y las dificultades para reemplazar prótesis sin células vivas.

- La integración débil e incorporación de andamios funcionalizados con ECM adyacente.

15 - La limitación para encontrar ECM saludable adecuada en injertos autólogos.

En la descripción, la composición permite la reconstrucción de una ECM biocompatible que se constituye de polihidroxiuretanos y los constituyentes esenciales de la ECM original, las proteínas y los glucosaminoglicanos. Esta ECM se forma in vitro e in vivo mediante la polimerización de los grupos funcionales de monómeros o prepolímeros de los polihidroxiuretanos que dan soporte a la solubilización y la creación de contactos estrechos o enlaces covalentes entre proteínas, proteínas parcialmente hidrolizadas o péptidos, químicamente modificadas o no y glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados o glucosaminas químicamente modificados o no en condiciones biocompatibles.

20

La composición según la invención se obtiene mediante dos preparaciones, denominadas "preparación a" y "preparación b" en el presente documento.

25 Preparación a

Los constituyentes esenciales para su uso previsto en la preparación a son los glucosaminoglicanos tales como los condroitín sulfato; el ácido hialurónico; los heparán sulfatos; los dermatán sulfatos; los queratán sulfatos; los agreganos; sus fracciones hidrolizadas o sus constituyentes de glucosaminas y poliglucosaminas; los constituyentes anteriores pueden modificarse químicamente con uno o más de los monómeros o unidad de prepolímeros del polihidroxiuretano y las mezclas de aquellas sustancias, denominados en la presente memoria la "mezcla GAG".

30

La "mezcla GAG" de la preparación a se dispersa o disuelve en el medio continuo que contiene un disolvente aceptable a una concentración por encima del 1% y, de manera opcional, monómeros o prepolímeros del polihidroxiuretano no unidos covalentemente a la "mezcla GAG", por ejemplo, un policarbonato cíclico con ciclos de 5 a 8 átomos.

35 Más particularmente, los policarbonatos cíclicos de moléculas polihidroxiadas que transportan al menos tres, funciones hidroxilo, primarias o secundarias, no aromáticas.

Por ejemplo, policarbonatos cíclicos de eritritol, xilitol, arabitól, ribitol, sorbitol, dulcitol, manitol, maltitol, isomaltitol, lactitol o polioles poliéter y las mezclas de los anteriores así como también carbonatos cíclicos y policarbonatos de (1,2-dihidroxietil), o (2,3-dihidroxipropil) éter, éster, cetona, amida, fosfato, sulfato, sulfuro, disulfuro, alcanos, cicloalcanos, alquenos, cicloalquenos, arilos, y heterociclos que contienen uno o más átomos de oxígeno, o heterociclos aromáticos que contienen uno o más átomos de nitrógeno o azufre.

40

Los policarbonatos cíclicos no comerciales de la preparación a se obtienen siguiendo métodos que se describen en la bibliografía y la técnica anterior, por ejemplo, el método que se describe por Union Carbide Corporation en la patente 3,072,613 de fecha 8 de enero de 1963.

45 Por ejemplo, el policarbonato cíclico monómero no comercial de Diglicerol se obtiene mediante calentamiento lento hasta una temperatura de 130 ° Celsius de una mezcla que contiene Diglicerol, un exceso de carbonato de dietilo y una cantidad catalítica de carbonato de sodio. El rendimiento es muy alto.

Los prepolímeros de los polihidroxiuretanos con un grado de polimerización de 3 a 200.000, preferiblemente de 3 a 20.000 se obtienen siguiendo métodos que se describen en la bibliografía y la técnica anterior, por ejemplo, el método que se describe por Union Carbide Corporation en la patente 3,072,613 de fecha 8 de enero de 1963. El prepolímero de los polihidroxiuretanos de la preparación a se formula y prepara mediante formas que aseguran que sus extremos terminales sean funciones de carbonato cíclico.

50

5 Los glucosaminoglicanos químicamente modificados con componentes del polihidroxiuretano se obtienen siguiendo los métodos que se describen en la bibliografía y la técnica anterior. Por ejemplo, un ácido hialurónico modificado de la "mezcla GAG" se obtiene mediante su desacetilación en medio cáustico, continuando con su esterificación con el policarbonato cíclico de Diglicerol, continuando con su carbamación con el mismo policarbonato cíclico u otro después de ajuste de pH entre 8 y 5. El glucosaminoglicano químicamente modificado con uno cualquiera de los policarbonatos que se describen anteriormente puede modificarse además con una diamina o poliamina que se describe en la presente invención. La reacción de carbamación de la cadena lateral del ácido hialurónico modificado se lleva a cabo en la presencia de un disolvente aceptable, tal como, por ejemplo, pero no se limitan a, agua a una temperatura entre 10 cero y 150 ° Celsius, preferiblemente, entre 15 y 80 ° Celsius. El ácido hialurónico químicamente modificado resultante puede someterse además a carbamación con un policarbonato cíclico en la condición que se describe anteriormente. La carbamación sucesiva del ácido hialurónico modificado puede realizarse además para construir una cadena lateral de polihidroxiuretano en el ácido hialurónico modificado de 3 a 25 entidades de monómeros terminadas con carbonatos cíclicos. El mismo procedimiento puede aplicarse a glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados o glucosaminas 15 que se describen en la invención.

De manera adicional, la preparación a puede contener proteínas, proteínas parcialmente hidrolizadas o péptidos, la "mezcla de proteínas", químicamente modificada con prepolímeros de polihidroxiuretanos o polihidroxiuretanos, terminados con funciones de carbonatos cíclicos.

20 La "mezcla de proteínas" químicamente modificada se obtiene, por ejemplo, al disolver colágeno en bis(1,4-aminopropil) piperazina, continuando con su amidación con una mezcla de carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida, continuando con la precipitación del colágeno modificado en TBME (éter metil terbutílico), continuando con la disolución y neutralización del precipitado húmedo en una solución de etanol anhidro con 4% de ácido acético, continuando con una precipitación del colágeno modificado en acetato de etilo, centrifugación y secado al vacío. De manera similar a la modificación química de la "mezcla GAG" que se describe anteriormente, esta "mezcla de 25 proteínas" químicamente modificada puede, después de su amidación, someterse además a carbamación con uno de los policarbonatos cíclicos que se describen en la presente invención en la presencia de un disolvente aceptable a una temperatura entre cero y 150 ° Celsius, preferiblemente, entre 15 y 80 ° Celsius. La proteína químicamente modificada resultante puede someterse además a carbamación con una de la diamina o poliamina que se describe en la presente invención. La carbamación sucesiva de la "mezcla de proteínas" puede realizarse además para construir una cadena lateral de polihidroxiuretano de 2 a 26 entidades de monómeros terminadas mediante funciones de 30 carbonatos cíclicos en la "mezcla de proteínas".

La preparación a contiene los constituyentes de la invención que transportan carbonatos cíclicos de terminales que no han reaccionado. La cantidad de funciones de carbonatos cíclicos que no han reaccionado de todos los constituyentes de la preparación a resulta suficiente para polimerizar o unirse covalentemente con respecto a funciones de aminas 35 primarias o secundarias que no han reaccionado de todos los constituyentes de la preparación b para obtener las propiedades convenientes de la composición que contiene polihidroxiuretanos y glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados y glucosaminas, químicamente modificados o no y proteínas, proteínas parcialmente hidrolizadas o péptidos, químicamente modificadas o no.

Preparación b

40 Los constituyentes esenciales para el uso previsto en la preparación b son las proteínas, tales como, los colágenos, las elastinas, las queratinas, las fibronectinas, las actinas, las miosinas, las lamininas, sus fracciones hidrolizadas o péptidos; los constituyentes anteriores químicamente modificados con uno o más componentes de los polihidroxiuretanos y las mezclas de aquellas sustancias, denominadas en la presente memoria la "mezcla de proteínas".

45 Las proteínas o péptidos químicamente modificadas con componentes del polihidroxiuretano se obtienen siguiendo métodos que se describen en la bibliografía y la técnica anterior. Por ejemplo, un colágeno modificado para la "mezcla de proteínas" se obtiene mediante la disolución de colágeno en bis(1,4-aminopropil)piperazina, continuando con su amidación con una mezcla de carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida, continuando con la precipitación del colágeno modificado en TBME (éter metil terbutílico), continuando con la disolución y neutralización del precipitado 50 húmedo en una solución de etanol anhidro con 4% de ácido acético, continuando con una precipitación del colágeno modificado en acetato de etilo, centrifugación y secado al vacío. De manera similar a la modificación química de la "mezcla GAG" que se describe en la preparación a, la proteína o péptido químicamente modificada puede, después de su amidación, someterse además a carbamación con uno de los policarbonatos cíclicos que se describen en la presente invención en la presencia de un disolvente aceptable a una temperatura entre cero y 150 ° Celsius, preferiblemente, entre 15 y 80 ° Celsius. La proteína químicamente modificada resultante puede someterse además a carbamación con una de la diamina que se describe en la presente invención. La carbamación sucesiva de la "mezcla de proteínas" puede procesarse además para construir una cadena lateral de polihidroxiuretano de 1 a 25 entidades de monómeros terminadas mediante funciones de amina primaria y secundaria en la "mezcla de proteínas". 55

La "mezcla de proteínas" se dispersa o disuelve en el medio continuo de la preparación b que contiene un disolvente 60 aceptable, tal como, por ejemplo, pero no se limita a, agua, a una concentración por encima del 1% y, de manera

opcional, monómeros o prepolímeros del polihidroxiuretano no unidos covalentemente a la “mezcla de proteínas”, por ejemplo, una poliamina primaria o secundaria.

5 Las poliaminas primarias o secundarias útiles en la presente invención son poliaminas primarias o secundarias de éter, éster, cetona, amida, fosfato, sulfato, sulfuro, disulfuro, alcanos, cicloalcanos, alquenos, cicloalquenos, arilos, sustituidos o no con funciones hidroxilo; o poliaminas primaria o secundaria y polialquilaminas primarias o secundarias de heterociclos que contienen uno o más átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre; o polieteraminas simples o que se mezclan con etilenglicol y propilenglicol; o una mezcla de estos compuestos.

10 Los prepolímeros de los polihidroxiuretanos con un grado de polimerización de 3 a 200.000, preferiblemente, de 3 a 20.000 se obtienen siguiendo métodos que se describen en la bibliografía y la técnica anterior, por ejemplo, el método que se describe por Union Carbide Corporation en la patente 3,072,613 de fecha 8 de enero de 1963. El prepolímero de los polihidroxiuretanos de la preparación b se formula y prepara mediante formas que aseguran que sus extremos terminales sean funciones de amina primaria o secundaria.

15 De manera adicional, la preparación a puede contener glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados o glucosaminas, la “mezcla GAG”, químicamente modificados con prepolímeros de polihidroxiuretanos o polihidroxiuretanos, terminados con funciones de amina primaria o secundaria.

20 De manera adicional, la preparación a puede contener glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados o glucosaminas, la “mezcla GAG”, químicamente modificados con monómeros o prepolímeros de polihidroxiuretanos o polihidroxiuretanos, terminados con funciones de amina primaria o secundaria que se obtienen, de manera alternativa, mediante amidación. Por ejemplo, un condroitín sulfato modificado de la “mezcla GAG” se obtiene mediante amidación con una diamina o poliamina, tal como, pero no se limita a, 1,3-diamino,2-propanol catalizado por una carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida a temperatura ambiente. El grado de amidación se controla mediante la cantidad de catalizador. Un condroitín sulfato parcialmente o completamente amidado que se obtiene se purifica mediante lavado sucesivo, precipitación y resuspensión en disolventes polares y menos polares. El condroitín sulfato parcialmente amidado puede amidarse además con prepolímeros de polihidroxiuretanos o polihidroxiuretanos, terminados con funciones de amina primaria o secundaria. La reacción se lleva a cabo a temperatura entre cero y 80 ° Celsius, preferiblemente, 20 y 60 ° Celsius con sistema catalizador de carbodiimida y N-hidroxisuccinimida. El glucosaminoglicano modificado se aísla mediante lavado sucesivo, precipitación y resuspensión en disolventes polares y menos polares.

30 La preparación b contiene los constituyentes de la invención que transportan funciones de amina primaria o secundaria terminales que no han reaccionado de las di y poliaminas. La cantidad de funciones de amina primaria o secundaria que no han reaccionado de las di y poliaminas de todos los constituyentes de la preparación b resulta suficiente para polimerizar o unirse covalentemente con respecto a funciones de carbonato cíclico que no han reaccionado de todos los constituyentes de la preparación a para obtener las funciones convenientes de la composición que contiene polihidroxiuretanos y glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados o glucosaminas, químicamente modificados o no y proteínas, proteínas parcialmente hidrolizadas o péptidos, químicamente modificadas o no.

Composición de preparaciones a y b

40 La mezcla de las preparaciones a y b permite la creación de una composición homogénea que contiene los constituyentes de la presente invención, denominados la “mezcla GAG”, la “mezcla de proteínas” en combinación con polihidroxiuretanos o unidos covalentemente con polihidroxiuretanos.

45 Las proporciones útiles de las preparaciones a y b para la composición mezclada se relacionan con la aplicación final conveniente. La proporción molar de carbonatos cíclicos con respecto a funciones de amina se configura entre 0,02 y 50. En el ejemplo de la sustitución o reconstrucción de la ECM, aquellas proporciones se calculan de manera tal que el número de funciones de carbonato cíclico que surgen de la preparación a o b resultan equivalentes o ligeramente mayores que el número de funciones de amina primaria y secundaria que surgen de la preparación b o a.

50 Las funciones de carbonato cíclico de la preparación a o b reaccionan con las funciones de amina primaria o secundaria de la preparación b o a mediante polimerización o uniones covalentes para formar diversos polihidroxiuretanos. Durante esta mezcla de las dos preparaciones, la temperatura puede aumentar a temperatura entre 15 y 150 ° Celsius dependiendo de los constituyentes de fase a y b, su concentración y el tipo de tecnología de mezclado que se elige de las tecnologías conocidas. La polimerización o enlaces covalentes para formar diversos polihidroxiuretanos puede controlarse de manera adicional mediante catalizadores tales como, pero no se limitan a, cinc, magnesio, bismuto, sales de aluminio o compuestos covalentes o fuentes fotónicas de luz infrarroja para controlar la velocidad de polimerización y formación de enlaces covalentes.

55 La composición que se obtiene que comprende polihidroxiuretanos, glucosaminoglicanos y proteínas resulta, por ejemplo, útil para la preparación de microgel o micropartículas para administrar sustancias farmacéuticas activas o para brindar apoyo a células vivas, o para el tratamiento de superficies en contacto con materiales vivos, o para el tratamiento de superficies para proporcionarles afinidades específicas con respecto a polisacáridos, proteínas, proteínas parcialmente hidrolizadas y péptidos, o con respecto a proteínas químicamente modificadas y proteínas

parcialmente hidrolizadas y péptidos para proporcionarles propiedades físicas, biológicas, farmacológicas o medicinales nuevas o para la reconstrucción y la sustitución de matriz extracelular in vitro o in vivo.

5 La composición innovadora que se obtiene mediante la mezcla de las preparaciones a y b puede complementarse mediante solución fisiológica, células y sus reguladores de factor de crecimiento, minerales, particularmente, sales de fosfato y cualquier otro componente que se presenta normalmente en el ambiente de la EMC o para el propósito de la aplicación.

Esta composición innovadora resulta, por ejemplo, útil para la sustitución y la reconstrucción de matriz extracelular conectiva, epitelial, nerviosa, muscular, ósea, cartilaginosa, o dérmica, animal o humana.

10 Esta composición innovadora resulta además útil para recubrir las superficies de materiales foráneos que se implantan en organismos vivos durante períodos permanentes o transitorios.

Descripción detallada de la invención

La invención se comprenderá mejor en el presente capítulo, con algunos ejemplos y las siguientes figuras:

15 La Figura 1 muestra las propiedades reológicas viscoelásticas de una composición según un primer ejemplo de la invención.

La Figura 2 muestra las propiedades reológicas viscoelásticas de una composición según un segundo ejemplo de la invención.

La Figura 3 muestra las propiedades reológicas viscoelásticas de una composición según un tercer ejemplo de la invención.

20 Ejemplo 1

Preparación a

En un reactor equipado con un agitador mecánico se agregan 20 partes de Triglicerol (Poliglicerol-3; Solvay), 50 partes de carbonato de dietilo y 0,5 partes de carbonato de sodio finamente triturados.

25 La mezcla en agitación se calienta durante un período de una hora a 90 ° Celsius, hasta que la mezcla aparece homogénea. Es entonces cuando se calienta lentamente hasta 130 ° Celsius en una a dos horas y se mantiene luego a la temperatura durante una a dos horas más. El alcohol etílico que se forma durante la reacción se elimina mediante destilación. Después de tres horas, la mezcla se coloca al vacío de aproximadamente 15 mbar para retirar residuos de alcohol etílico y carbonato de dietilo.

30 La mezcla se filtra en caliente para retirar el catalizador y se agregan 1,5 partes de sal de sodio de condroitin-4-sulfato (Sigma-Aldrich).

Preparación b

Se agregan 1,5 partes de colágeno tipo II hidrolizado químicamente de origen porcino (Meitek Technology Qinqdao Co. Ltd) a 20 partes de 1,3-diamino-2-propanol. La preparación b se mantiene en agitación a temperatura ambiente para obtener un líquido homogéneo viscoso.

35 Composición de las preparaciones a y b

40 20 partes de la preparación a se precalientan a aproximadamente 50 ° Celsius. 6,5 partes de preparación b se agregan y se mezclan con un equipo de mezclador de alta cizalla convencional. La temperatura de la composición aumenta rápidamente a 80 ° Celsius. La composición se enfría a alrededor de 45 ° Celsius y 4,8 partes de una solución de ácido hialurónico al 5% (Sigma-Aldrich) en un regulador de PBS se agrega y se mezcla con el mismo equipo como se menciona anteriormente.

La composición que se obtiene resulta útil como un sustituto de matriz extracelular, y muestra propiedades reológicas viscoelásticas como se muestra en la figura 1.

Ejemplo 2

Preparación a

45 En un reactor equipado con un agitador mecánico se agregan 20 partes de Triglicerol (Poliglicerol-3; Solvay), 12 partes de sorbitol (Sigma-Aldrich), 100 partes de carbonato de dietilo y 1 parte de carbonato de sodio finamente triturados.

La mezcla en agitación se calienta durante un período de una hora a 115 ° Celsius, hasta que la mezcla aparece homogénea. Es entonces cuando se calienta lentamente hasta 130 ° Celsius en aproximadamente una hora y se mantiene luego a la temperatura durante una a dos horas más. El alcohol etílico que se forma durante la reacción se

ES 2 729 301 T3

elimina mediante destilación. Después de tres horas, la mezcla se coloca al vacío de aproximadamente 15 mbar para retirar residuos de alcohol etílico y carbonato de dietilo.

5 La mezcla se filtra en caliente para retirar el catalizador y se agregan 3,2 partes de sal de sodio de condroitin-4-sulfato (Sigma-Aldrich).

Preparación b

10 Se disuelven 0,7 parte de colágeno tipo I insoluble de tendón de Aquiles de ternera (Sigma-Aldrich) en 7 partes de 1,3-diamino-2-propanol, 4,9 partes de 3,6-dioxaoctametildiamina (JEFFAMIN EDR 148, Huntsman), y 2,1 partes de hexametildiamina. Se agregan 2,1 partes de colágeno tipo II químicamente hidrolizado de origen porcino (Meitek Technology Qinqdao Co. Ltd) en la mezcla precalentada a aproximadamente 40 ° Celsius para obtener la preparación b.

Composición de las preparaciones a y b

15 20 partes de la preparación a se precalientan a aproximadamente 50 ° Celsius. 15,8 partes de la preparación b se agregan y se mezclan con un equipo de mezclador de alta cizalla convencional. La temperatura de la composición aumenta rápidamente por encima de 80 ° Celsius.

La composición que se obtiene resulta útil, por ejemplo, para recubrir superficies de materiales foráneos que se implantan en organismos vivos durante períodos permanentes o transitorios. La composición 2 muestra propiedades reológicas viscoelásticas como se muestra en la figura 2.

Ejemplo 3

20 Preparación a

25 En un reactor equipado con un agitador mecánico se agregan 23,3 partes de Triglicerol (Poliglicerol-3; Solvay), 6,7 partes de Diglicerol (TCI Europe N.V), 75 partes de carbonato de dietilo y 1,5 partes de carbonato de sodio finamente triturados. La mezcla en agitación se calienta durante un período de una hora a 90 ° Celsius, hasta que la mezcla aparece homogénea. Es entonces cuando se calienta lentamente hasta 130 ° Celsius en aproximadamente una hora y se mantiene luego a la temperatura durante una a dos horas más. El alcohol etílico que se forma durante la reacción se elimina mediante destilación. Después de tres horas, la mezcla se coloca al vacío de aproximadamente 15 mbar para retirar residuos de alcohol etílico y carbonato de dietilo. La mezcla se filtra en caliente para retirar el catalizador y se agregan 2 partes de sal de sodio de condroitin-4-sulfato (Sigma-Aldrich).

Preparación b

30 Se disuelven 1 parte de colágeno tipo I insoluble de tendón de Aquiles de ternera (Sigma-Aldrich) en 10 partes de 1,3-diamino-2-propanol. Se agrega 1 parte de colágeno tipo II químicamente hidrolizado de origen porcino (Meitek Technology Qinqdao Co. Ltd) en la mezcla precalentada a aproximadamente 50 ° Celsius para obtener la preparación b.

Composición de las preparaciones a y b

35 15 partes de preparación a se precalientan a aproximadamente 50 ° Celsius. 7,25 partes de preparación b se agregan y se mezclan con un equipo de mezclador de alta cizalla convencional. La temperatura de la composición aumenta rápidamente por encima de 80 ° Celsius. La composición que se obtiene resulta útil, por ejemplo, como sustituto de matriz extracelular, o para recubrir superficies de materiales foráneos que se implantan en organismos vivos durante períodos permanentes o transitorios. La composición 3 muestra propiedades reológicas viscoelásticas como se muestra en la figura 3.

Ejemplo 4

Preparación a

45 En agua con NaOH 0,25 M se introduce 5% en peso de ácido hialurónico (Sigma-Aldrich), el producto se desacetila a temperatura ambiente durante 12 h. Se agrega dicarbonato de diglicerol que se prepara como se describe anteriormente en solución de acetona al 50% con respecto a la mezcla. La cantidad que se agrega se calcula como la cantidad de ácido carboxílico libre del ácido hialurónico. Después de 1 a 12 horas a una temperatura entre 20 ° y 75 ° Celsius, el medio de reacción se neutraliza con HCl 1 M acuoso lo que conduce al escape de CO₂. Se agrega a la composición la misma cantidad de dicarbonato de diglicerol en acetona al 50% como anteriormente a una temperatura entre 20 ° y 75 ° Celsius. La mezcla se agita durante 10 minutos a 10 horas y se concentra al vacío para proporcionar un glucosaminoglicano químicamente modificado.

Preparación b

5 En acetato de etilo se agrega 5% en peso de 1,4-bis(3-aminopropil)piperazina y 6% en peso de dicarbonato de diglicerol cíclico. El medio de reacción se calienta a entre 50 y el punto de ebullición durante 2 a 15 horas para producir el polihidroxiuretano correspondiente terminado mediante funciones de amina. El acetato de etilo se retira mediante destilación al vacío y el polihidroxiuretano se redisuelve en un disolvente aceptable tal como, por ejemplo, pero sin limitarse a, agua. Se agrega 1% de colágeno tipo II químicamente hidrolizado de origen porcino (Meitek Technology Qinqdao Co. Ltd) al prepolímero de polihidroxiuretano.

Mezcla de a y b

10 Las preparaciones a y b se mezclan en proporciones para asegurar que las funciones de carbonato cíclico sean equivalentes a o ligeramente por encima de las funciones de amina. La composición resultante es un producto transparente sólido.

Ejemplo 5

Preparación b

15 Se agregan a 400 ml de 1,4-bis(3-aminopropil)piperazina 10 g de colágeno tipo II químicamente hidrolizado de origen porcino (Meitek Technology Qinqdao Co. Ltd). La mezcla se agita a temperatura ambiente hasta disolución. Se agregan, además, 17,5 g de N-hidroxisuccinimida y 26,75 g de carbodiimida (EDC) en pequeña porción y se agita durante 12 horas a temperatura ambiente para amidar la proteína.

La proteína amidada se precipita de la mezcla de reacción con dos veces el volumen de éter metil terbutílico (TBME).

20 El precipitado húmedo de 90 ml de la fase de TBME se neutraliza con seis veces el volumen de EtOH anhidro/ácido acético al 4%. El colágeno amidado re-disuelto en solución orgánica neutralizada se precipita con 2,5 veces el volumen de acetato de etilo, se centrifuga y se seca al vacío.

Mezcla de preparación a de ejemplo 4 y preparación b

25 La preparación a de ejemplo 4 y b se mezclan an proporciones para asegurar que las funciones de carbonato cíclico sean equivalentes a o ligeramente por encima de las funciones de amina. La composición resultante es un producto transparente viscoelástico.

Ejemplo 6

Preparación b

30 Se toman 10 partes de preparación b de ejemplo 5 (la "mezcla de proteínas") que es una proteína modificada, 5 partes de preparación b de ejemplo 4 que es un prepolímero de polihidroxiuretano terminado con funciones de amina y colágeno con y 35 partes de preparación b de ejemplo 3. Esta premezcla es la composición que contiene las funciones de amina.

Preparación a

35 A 20 partes de la preparación a de ejemplo 4 (la "mezcla GAG") que es un glucosaminoglicano modificado, se agregan y disuelven a una temperatura entre 45 y 65 ° Celsius, 15 partes de bis-(carbonato cíclico) de Triglicerol que se prepara como se describe en el ejemplo 1. Esto proporciona una composición con las funciones de carbonato cíclico.

Mezcla de a y b

Aquellas dos premezclas se mezclan para dar una composición que contiene polihidroxiuretano, glucosaminoglicanos modificados, proteínas y proteínas modificadas, que dan como resultado una espuma blanca semisólida elástica.

Ejemplo 7

40 Preparación a

Preparación a de ejemplo 4

Preparación b

45 Se disuelven 0,7 partes de colágeno tipo I insoluble de tendón de Aquiles de ternera (Sigma-Aldrich) en 7 partes de 1,3-diamino-2-propanol, 4,9 partes de 3,6-dioxaoctametilendiamina (JEFFAMIN EDR 148, Huntsman), y 2,1 partes de hexametildiamina. Se agregan 2,1 partes de colágeno tipo II químicamente hidrolizado de origen porcino (Meitek Technology Qinqdao Co. Ltd) a la mezcla precalentada a aproximadamente 40 ° Celsius para obtener la preparación b.

ES 2 729 301 T3

Se agregan a 10 partes de esta preparación b de colágeno en monómero de polihidroxiuretanos, 5 partes de prepolímero de polihidroxiuretanos terminadas con funciones de amina como se preparan en la preparación b del ejemplo 4.

5 Mezcla de a y b

A aquellas 15 partes de preparación b que contienen las funciones de amina, se agregan y mezclan 20 partes de preparación a de ejemplo 4 para dar un hidrogel transparente a 37 ° Celsius con polihidroxiuretanos, glucosaminoglicanos químicamente modificados y proteínas.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende un primer, segundo y tercer constituyentes, en la que
 - 5 - dicho primer constituyente es un glucosaminoglicano, un glucosaminoglicano parcialmente hidrolizado, una glucosamina, químicamente modificado o no, o una mezcla de diferentes glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados, glucosaminas, químicamente modificados o no;
 - dicho segundo constituyente es una proteína, un péptido o una mezcla de diferentes proteínas o péptidos;
 - dicho tercer constituyente es un polihidroxiuretano (PHU) que se obtiene mediante el acoplamiento covalente de bis o policarbonatos cíclicos (CC) y moléculas de di o poliaminas (PA).
- 10 2. La composición de la reivindicación 1, en donde dicha proteína es un colágeno, elastina, queratina, fibronectina, actina, miosina, laminina, o péptido o una mezcla de aquellas proteínas o péptidos, hidrolizadas, químicamente modificadas, fibriladas o no.
3. La composición de la reivindicación 1 o 2 que se obtiene mediante la polimerización o formación de enlace covalente entre los constituyentes de dos preparaciones a y b, en la que:
 - 15 - la preparación a tiene al menos 1% de glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos parcialmente hidrolizados, glucosaminas, o glucosaminoglicanos químicamente modificados, glucosaminoglicanos hidrolizados, glucosaminas con policarbonatos cíclicos o con prepolímero de polihidroxiuretano terminado en funciones de carbonatos cíclicos (PRE-CC) o una mezcla de aquellos constituyentes diferentes en una mezcla que contiene disolventes aceptables y, de manera opcional, monómeros de CC de PHU o PRE-CC o una mezcla de PRE-CC y CC para asegurar que la
 - 20 preparación a contiene funciones de carbonato cíclico, y
 - la preparación b tiene al menos 1% de colágenos, elastinas, queratinas, fibronectinas, actinas, miosinas, lamininas, péptidos, hidrolizadas, fibriladas o no, o colágenos, elastinas, queratinas, fibronectinas, actinas, miosinas, lamininas, péptidos, químicamente modificadas, hidrolizadas, fibriladas o no con PA o con prepolímero de polihidroxiuretano terminado mediante funciones de amina (PRE-PA) o una mezcla de aquellos constituyentes en una mezcla que
 - 25 contiene disolventes aceptables y, de manera opcional, monómeros de PA de PHU o PRE-PA o una mezcla de PRE-PA y PA para asegurar que la preparación b contiene funciones de amina de poliaminas.
 - 4. La composición de la reivindicación 1 o 2 que se obtiene mediante la polimerización o formación de enlace covalente entre los constituyentes de dos preparaciones a y b, en la que,
 - 30 - La preparación a tiene al menos 1% de glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos hidrolizados, glucosaminas, o glucosaminoglicanos químicamente modificados, glucosaminoglicanos hidrolizados, glucosaminas con CC o con PRE-CC o una mezcla de aquellos constituyentes diferentes y colágenos, elastinas, queratinas, fibronectinas, actinas, miosinas, lamininas, péptidos químicamente modificadas, o una mezcla de aquellos constituyentes hidrolizados, fibrilados o no terminados mediante funciones de CC en una mezcla que contiene disolventes aceptables y, de manera opcional, monómeros de CC de PHU o un PRE-CC o una mezcla de PRE-CC y CC para asegurar que la preparación
 - 35 a contiene funciones de CC, y
 - la preparación b contiene monómeros de PA PHU o PRE-PA o una mezcla de PRE-PA y PA, de manera opcional, en disolventes aceptables para asegurar que la preparación b contiene funciones de amina de poliaminas,
 - 5. La composición de la reivindicación 1 o 2 que se obtiene mediante la polimerización o formación de enlace covalente entre los constituyentes de dos preparaciones a y b, en la que,
 - 40 - la preparación a contiene monómeros de CC de PHU o PRE-CC de PHU o una mezcla de PRE-CC y CC, de manera opcional, en disolventes aceptables para asegurar que la preparación a contiene funciones de CC y,
 - 45 - la preparación b contiene glucosaminoglicanos químicamente modificados, glucosaminoglicanos hidrolizados, glucosaminas, o una mezcla de aquellos constituyentes, terminados mediante funciones de amina y al menos el 1% de colágenos, elastinas, queratinas, fibronectinas, actinas, miosinas, lamininas, péptidos, hidrolizadas, fibriladas o no, o colágenos, elastinas, queratinas, fibronectinas, actinas, miosinas, lamininas, péptidos, químicamente modificadas, hidrolizadas, fibriladas o no con PA o con PRE-PA o una mezcla de aquellos constituyentes en una mezcla que contiene disolventes aceptables y, de manera opcional, monómeros de PA PHU o PRE-PA o una mezcla de PRE-PA y PA para asegurar que la preparación b contiene funciones de amina de PA.
 - 50 6. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la que los monómeros de CC son policarbonatos cíclicos de ciclos de 5 a 8 átomos que se obtienen de moléculas polihidroxiadas que contienen al menos tres, funciones hidroxilo, primarias o secundarias, no aromáticas, y los monómeros de PA son PA primarias o secundarias.
 - 7. La composición de la reivindicación 5, en la que la PRE-CC es PHU de 1 a 200.000, preferiblemente, 1 a 20.000, monómeros de CC y PA, terminados mediante monómeros de CC, y el PRE-PA es un PHU de 1 a 200.000, preferiblemente 1 a 20.000, monómeros de CC y PA, terminados mediante monómeros de PA.

- 5 8. La composición de la reivindicación 1, 3 o 4 en la que la modificación química de los glucosaminoglicanos, los glucosaminoglicanos hidrolizados, las glucosaminas de glucosaminoglicanos, o la mezcla de los diferentes glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos hidrolizados, glucosaminas de glucosaminoglicanos es una esterificación, o una desacetilación que continúa con una esterificación y una carbamación, o una desacetilación que continúa con una carbamación con CC o PRE-CC.
9. La composición de la reivindicación 1 o 5, en la que el primer constituyente se modifica químicamente a través de una amidación con el monómero de PA o PRE-PA o una combinación de ambos.
- 10 10. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3-4 u 8 en la que el primer constituyente se modifica químicamente y se somete a carbamación con el monómero de PA o PRE-PA.
- 15 11. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3-5 u 8-10 en la que la se somete además a carbamación de manera sucesiva con CC y PA para obtener PHU terminado mediante CC o PA que se injerta químicamente en glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos hidrolizados, glucosaminas de glucosaminoglicanos, o la mezcla de los diferentes glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos hidrolizados, glucosaminas de glucosaminoglicanos.
12. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 a 8 o 10-11 en la que los monómeros de CC son policarbonatos cíclicos de eritritol, xilitol, arabitol, ribitol, sorbitol, dulcitol, manitol, maltitol, isomaltitol, lactitol o polioles poliéter y sus mezclas.
- 20 13. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 a 8 o 10-11, en la que en la que los monómeros de CC son policarbonatos cíclicos de (1,2-dihidroxietil), o (2,3-dihidroxipropil) éter, éster, cetona, amida, fosfato, sulfato, sulfuro, disulfuro, alcanos, cicloalcanos, alquenos, cicloalquenos, arilos, y heterociclos que contienen uno o más átomos de oxígeno, o heterociclos aromáticos que contienen uno o más átomos de nitrógeno o azufre.
- 25 14. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 a 8 o 10 a 11, en la que en la que los monómeros de policarbonatos cíclicos (CC) son una mezcla de policarbonatos cíclicos de las reivindicaciones 12 y 13.
- 30 15. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que el constituyente (A) es un glucosaminoglicano, un glucosaminoglicano hidrolizado, una glucosamina de glucosaminoglicano, químicamente modificado o no, o una mezcla de diferentes glucosaminoglicanos, glucosaminoglicanos hidrolizados, glucosaminas de glucosaminoglicanos químicamente modificados o no que se toman de la lista de las siguientes sustancias:
- Condroitín sulfatos;
 - Ácido hialurónico;
 - Heparán sulfatos;
 - Dermatán sulfatos;
 - Queratán sulfatos;
 - Agrecanos;
- 35 16. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3 a 5 en la que las modificaciones químicas de colágenos, elastinas, queratinas, fibronectinas, actinas, miosinas, lamininas, péptidos, o una mezcla de aquellas proteínas o péptidos, hidrolizadas, fibriladas o no, constituyen amidaciones con PA o PRE-PA o una mezcla de PA y PRE-PA o amidación sucesiva con PA y PRE-PA.
- 40 17. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 2, 3-5 o 16 en la que los colágenos, elastinas, queratinas, fibronectinas, actinas, miosinas, lamininas, péptidos, químicamente modificadas o una mezcla de aquellas proteínas o péptidos, hidrolizadas, fibriladas o no, se someten a carbamación con el monómero de CC o Prepolímero PRE-CC.
- 45 18. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 2, 3-5, 16 o 17, en la que se somete además a carbamación de manera sucesiva con PA y CC para obtener PHU terminado mediante PA o CC que se injerta químicamente en colágenos, elastinas, queratinas, fibronectinas, actinas, miosinas, lamininas, péptidos o una mezcla de aquellas proteínas o péptidos, hidrolizadas, fibriladas o no.
- 50 19. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 o 16 a 18, en la que los monómeros de PA primaria y secundaria son poliaminas primarias o secundarias de éter, éster, cetona, amida, fosfato, sulfato, sulfuro, disulfuro, alcanos, cicloalcanos, alquenos, cicloalquenos, arilos, sustituidos o no con funciones hidroxilo; o poliaminas primarias o secundarias y polialquilaminas primarias o secundarias de heterociclos que contienen uno o más átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre, sustituidos o no con funciones hidroxilo; o polieteraminas simples o que se mezclan con etilenglicol y propilenglicol; o una mezcla de aquellos compuestos.

- 5 20. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 5 en la que proporción del número de funciones de carbonato cíclico no polimerizado o unido covalentemente de monómeros de CC, PRE-CC y constituyentes primarios y secundarios químicamente modificados, y el número de funciones de amina primaria y secundaria no polimerizada o unida covalentemente de monómeros de PA, el PRE-PA y los constituyentes primarios y secundarios químicamente modificados es entre 50 y 0,02.
- 10 21. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, en la que un catalizador o una mezcla de catalizadores que se toman de la forma iónica o covalente de Li, Na, K, Mg, Zn, B y Al o una fuente fotónica de luz infrarroja se usa para controlar la polimerización o formación de uniones covalentes entre carbonatos cíclicos y funciones de aminas primarias o secundarias.
- 15 22. Una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3 a 14, o 16 a 21 para la sustitución o la reconstrucción de matriz extracelular conectiva, epitelial, nerviosa, muscular, ósea, cartilaginosa, o dérmica, animal o humana para la que la proporción del número de funciones de carbonato cíclico no polimerizado, o unido covalentemente de monómeros de CC, PRE-CC y constituyentes primarios y secundarios químicamente modificados, y el número de funciones de amina primaria y secundaria no polimerizada, o unida covalentemente de monómeros de PA, el PRE-PA y los constituyentes primarios y secundarios químicamente modificados es entre 2 y 0,5.
23. Una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 para recubrimiento de las superficies de materiales foráneos en organismos vivos durante períodos permanentes o transitorios.
- 20 24. Una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 como transportador, modificador o protector de células vivas, sustancias y materiales biológicos y farmacológicos.

Figura 1 - Ejemplo 1

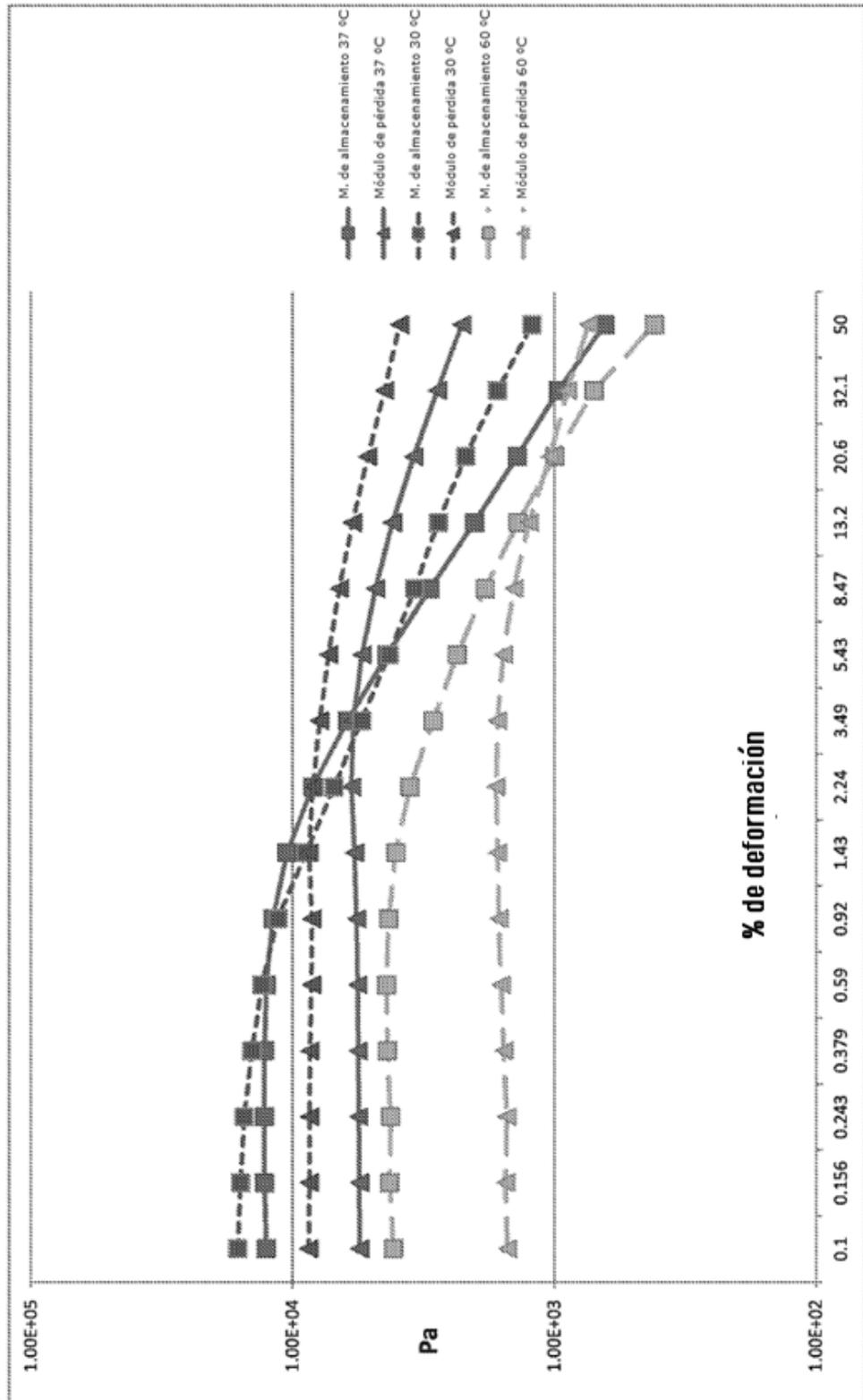


Figura 2 - Ejemplo 2

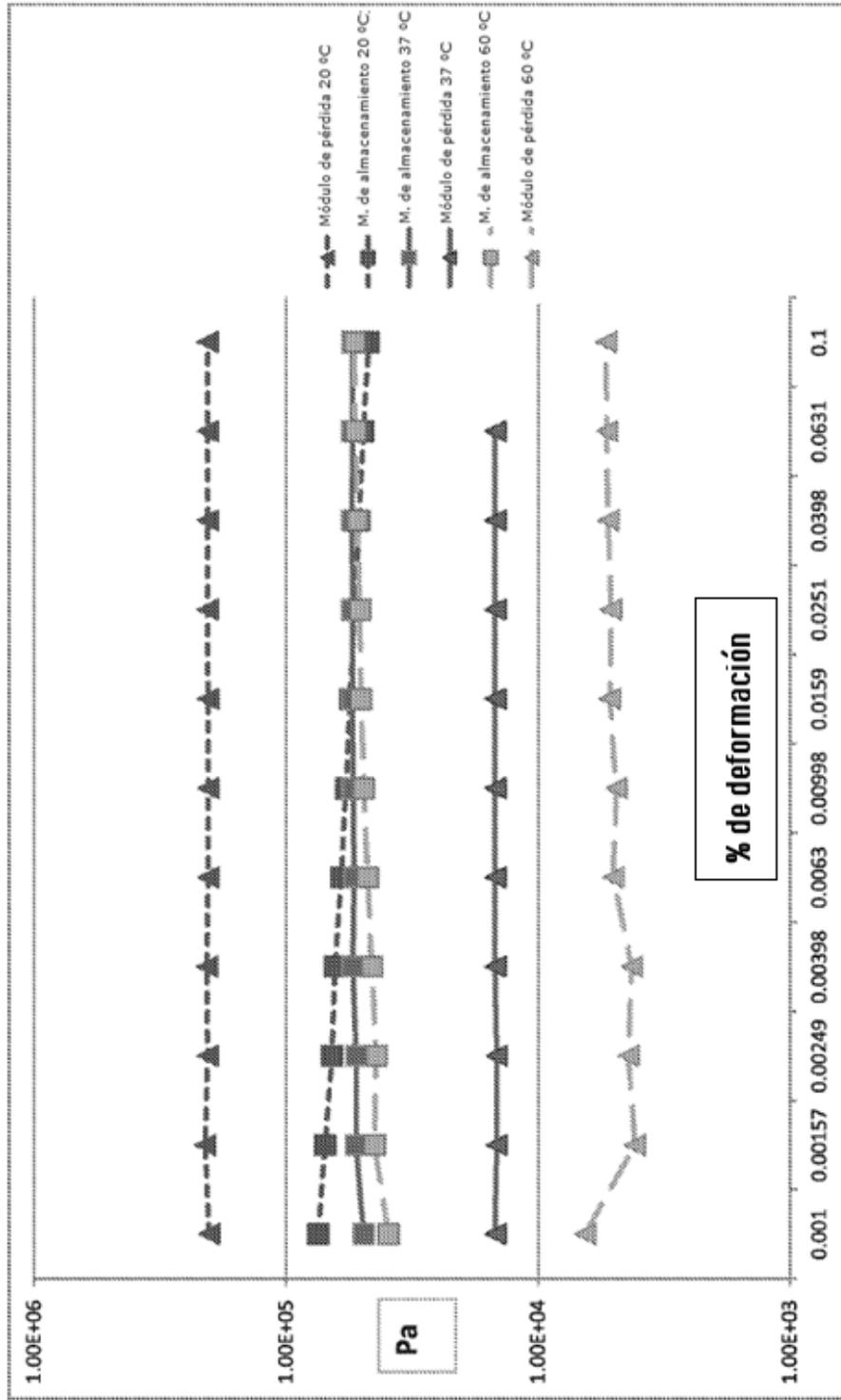


Figura 3 - Ejemplo 3

