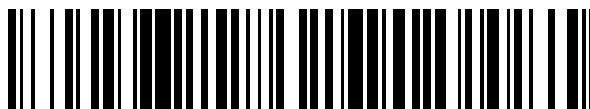


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 765 001**

51 Int. Cl.:

C08B 37/00 (2006.01)
C08L 5/08 (2006.01)
C08L 5/10 (2006.01)
A61K 8/73 (2006.01)
A61K 31/715 (2006.01)
A61K 31/727 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.03.2011** **PCT/IB2011/000455**
87 Fecha y número de publicación internacional: **09.09.2011** **WO11107866**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2011** **E 11727511 (5)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.10.2019** **EP 2542591**

54 Título: **Derivados silílicos de polisacáridos**

30 Prioridad:

05.03.2010 IT MI20100365

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
05.06.2020

73 Titular/es:

SILDEHA SWISS SA (100.0%)
Via Bosia 13
6900 Paradiso, CH

72 Inventor/es:

AITA, GASPARE;
MANENTI, DEMETRIO;
ROSSI, PASQUALINO y
ROSANO, GIUSEPPE

74 Agente/Representante:

TORNER LASALLE, Elisabet

ES 2 765 001 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados silícicos de polisacáridos

Campo de la invención

5 La presente invención versa sobre nuevos derivados silícicos de ácido hialurónico y sus sales, los procedimientos para su preparación y su uso en el campo cosmético/farmacéutico.

Técnica anterior

10 Los polisacáridos son compuestos poliméricos formados por unidades base repetitivas de mono o disacáridos unidas por enlaces glicosídicos. Estos compuestos son a menudo heterogéneos y contienen unidades repetitivas que están ligeramente modificadas mutuamente y con respecto a la unidad base. Estas son macromoléculas que, según su estructura, pueden tener características y propiedades diferentes de las de las respectivas unidades base.

El ácido hialurónico (HA) es el principal componente de una familia de polisacáridos más conocida como glucosaminoglicanos.

15 Su estructura corresponde a la de un polímero lineal no ramificado compuesto de una unidad de disacárido formada por ácido glucurónico y N-acetilglucosamina que se repite en la molécula un gran número de veces, hasta alcanzar pesos moleculares del orden de varios millones de daltones.

El interés en esta molécula ha aumentado enormemente en años recientes, ya que es usada con gran éxito en la cirugía estética para tratar arrugas, en la cirugía oftálmica como principio terapéutico y en algunas artropatías degenerativas.

20 El uso cosmético/farmacéutico del ácido hialurónico está vinculado a la característica química de la molécula de disponerse según una configuración de "ovillo de lana", capaz por ello de absorber un gran volumen de agua. Además, la presencia de grupos carboxilo y grupos hidroxilo dispuestos a lo largo de su cadena de polisacárido le da marcadas propiedades viscoelásticas y una sustancial afinidad por el agua.

25 Por lo tanto, debido a su capacidad de absorber y retener grandes cantidades de agua, el ácido hialurónico es capaz de mantener el debido grado de humedad en la piel incluso en presencia de un nivel de humedad externa muy bajo. El ácido hialurónico también es un componente fundamental del líquido sinovial. Este líquido se encuentra dentro de las articulaciones, y su propósito es proteger el cartílago contra el desgaste y de las cargas excesivas. Además de absorber movimientos, el líquido sinovial nutre el cartílago, acelerando los procesos de cicatrización.

El envejecimiento articular, igual que el envejecimiento cutáneo, está asociado con la disminución en la producción de líquido sinovial.

30 El ácido hialurónico es particularmente eficaz en el tratamiento y la prevención de osteoartritis, enfermedad degenerativa que afecta al cartílago. De hecho, las infiltraciones intraarticulares de esta sustancia pueden reducir el dolor y, al mismo tiempo, acelerar los procesos de cicatrización. La terapia a base de ácido hialurónico ha demostrado ser eficaz, sobre todo, en lesiones de tamaño mediano y pequeño.

35 En este campo, como en el campo de la cosmética, la acción del ácido hialurónico no es duradera, y esto hace necesario repetir el tratamiento o la aplicación cada 6-12 meses.

El ácido hialurónico también se usa en cirugía oftálmica, otológica y ocular y en procesos de cicatrización y regeneración de tejidos.

Un objeto de la presente invención es proporcionar nuevos compuestos derivados de polisacáridos que son estables, no fácilmente degradables y que pueden mantener así una acción eficaz que es duradera.

40 Otro objeto de la presente invención es proporcionar uno o más procesos de síntesis de nuevos compuestos derivados de polisacáridos que son fáciles de producir desde un punto de vista industrial.

Otro objeto adicional de la invención es proporcionar derivados de polisacáridos, incluyendo sus sales, que pueden ser usados ventajosamente en el campo cosmético y/o farmacéutico.

45 En particular, el objeto de la presente invención es proporcionar derivados de polisacáridos, incluyendo sus sales, que pueden ser usados ventajosamente en el campo cosmético y/o farmacéutico en el tratamiento y la curación de úlceras por presión, en el tratamiento y la curación de enfermedades de las mucosas - por ejemplo, oral o del tracto digestivo -, en el tratamiento y la curación de enfermedades de la mucosa - por ejemplo, del tracto respiratorio -, en el tratamiento y la curación del envejecimiento de la piel - por ejemplo, en el caso de dermatitis y en el tratamiento antienvjecimiento -, en el tratamiento y la curación de la paniculopatía (celulitis), o también en el tratamiento y la

curación de la artrosis primaria y secundaria y en el tratamiento de condropatías (enfermedades del cartílago articular).

Un objeto adicional de la invención es proporcionar composiciones cosméticas y/o farmacéuticas que comprenden los derivados de polisacáridos y/o sus sales según la invención, que son eficaces y siguen siéndolo mucho tiempo.

5 Descripción de la invención

Estos y otros objetos y ventajas relacionadas que serán más evidentes por la descripción que sigue se logran mediante un compuesto polisacárido derivado con al menos un átomo de silicio (Si) - es decir, un derivado silílico de polisacárido -, siendo dicho polisacárido ácido hialurónico (HA).

10 En otras palabras, se hace que el polisacárido de partida reaccione con al menos un compuesto derivado de silicio, obteniendo un compuesto de silicio orgánico en el que al menos un átomo de silicio está unido al polisacárido a través de al menos un enlace covalente. Según la presente invención, el término "derivado" se entiende como un compuesto en el que, con respecto a un compuesto de partida, al menos un átomo ha sido sustituido por otro átomo o por un grupo de átomos.

15 Por lo tanto, en el caso de la presente invención, el término derivado silílico de polisacárido se entiende como un compuesto (en este caso, el derivado silílico de polisacárido) en el que, con respecto al compuesto de partida (en este caso, el polisacárido), al menos un átomo (generalmente hidrógeno) ha sido sustituido por otro átomo (en este caso silicio) o por un grupo de átomos (en este caso derivados reactivos de silicio). La sustitución se llevó a cabo rompiendo y formando enlaces de tipo covalente; es decir, enlaces caracterizados por la compartición de átomos que participan en el enlace de al menos un par de electrones. Esta reacción también se indica a continuación con el término "silanización".

20 La silanización puede tener lugar en uno o más grupos funcionales (por ejemplo, hidroxilo, carboxilo, amino, sulfato) presentes en la unidad de repetición, en todas las unidades de repetición o solo en algunas. Por lo tanto, dependiendo de las condiciones de reacción, la reacción de silanización puede llevarse a cabo, por ejemplo, en una unidad de repetición cada 4 o cada 20. De nuevo a modo de ejemplo, representando con POH la fórmula general de un polisacárido, siendo P la estructura del polisacárido y siendo OH al menos un grupo hidroxilo presente en la estructura del polisacárido, puede esquematizarse con la siguiente fórmula general (I) a los nuevos derivados silílicos de polisacáridos según la invención:



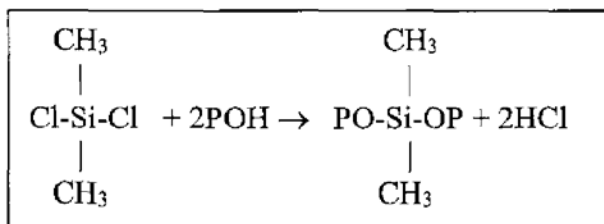
en la que un átomo de oxígeno del polisacárido está unido al silicio por medio de un enlace covalente, y en la que Y es el resto del derivado reactivo de silicio, por ejemplo, un radical alquilo o arilo.

30 Alternativamente, y siempre según la presente invención, representando con PNH la fórmula general de un polisacárido, siendo P la estructura del polisacárido y siendo NH al menos un grupo amino o amida que puede estar presente en la estructura del polisacárido, puede esquematizarse con la siguiente fórmula general (I') a los nuevos derivados silílicos de polisacáridos según la invención:



35 en la que un átomo de nitrógeno del polisacárido está unido al silicio por medio de un enlace covalente, y en la que Y es el resto del derivado reactivo de silicio, por ejemplo, un radical alquilo o arilo.

40 Por ejemplo, puede usarse un compuesto como derivado reactivo de silicio seleccionado entre: silanos halógenos (alquílicos y/o arílicos), silanos (alquílicos y/o arílicos), silanoles (alquílicos y/o arílicos), silazanos, disilazanos y otros sililos, que reaccione con los hidrógenos activos de los grupos hidroxilo y carboxilo, de los grupos funcionales ácidos de elementos diferentes del carbono, de grupos amino y amida opcionalmente presentes en la estructura del polisacárido (POH), dando lugar a un derivado silílico de polisacárido según el siguiente esquema:

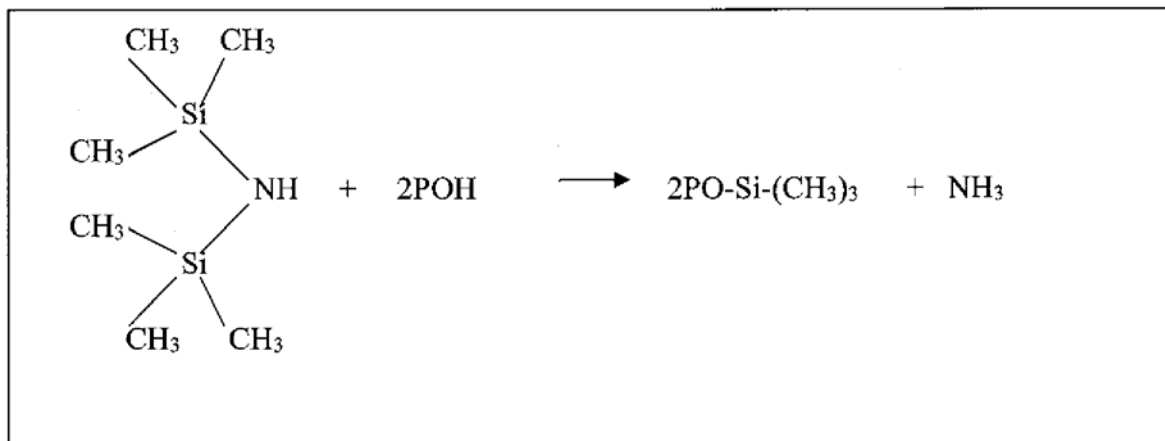


En el ejemplo recién mostrado, un diclorosilano (derivado reactivo de silicio) reacciona con grupos -OH hidroxilo y carboxilo de un polisacárido (o de dos polisacáridos adyacentes). Alternativamente, también puede ocurrir la misma

reacción con grupos -NH_2 amina y amida opcionalmente presentes en el polisacárido de partida, que en este caso podría ser representado convenientemente como POHNNH_2 .

El esquema que sigue muestra, en vez de ello, el caso en el que el derivado reactivo de silicio es hexametildisilazano, que reacciona con los grupos -OH hidroxilo y carboxilo de un polisacárido (o de dos polisacáridos adyacentes), representado en general como POH ,

5



También en este caso, puede ocurrir la misma reacción con grupos -NH_2 amina y amida que pueden estar presentes en el polisacárido de partida, que, por lo tanto, podría ser representado convenientemente como POHNNH_2 .

Por lo tanto, según la presente invención, dicho derivado reactivo de silicio puede ser representado por medio de una o más de las siguientes fórmulas generales a) a e) y seleccionado entre los siguientes compuestos:

- 10 a) en el caso de los silanos halógenos:



en la que

n está entre 0 y 3

- 15 R se selecciona entre H, alquilo, arilo, grupo heteroatómico, también diferentes entre sí

X es halógeno

- b) en el caso de los silanos:



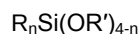
- 20 en la que

n está entre 0 y 3

R se selecciona entre alquilo, arilo, grupo heteroatómico, también diferentes entre sí

- 25 X es hidrógeno

- c) en el caso de los silanoles y sus éteres:



en la que

n está entre 0 y 3

- 30

R se selecciona entre H, alquilo, arilo, grupo heteroatómico, también diferentes entre sí

R' se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo, grupo heteroatómico

- d) en el caso de los silazanos:

R_3SiNR'

en la que

R se selecciona entre alquilo, arilo, grupo heteroatómico, también diferentes entre sí

5 R' se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo, grupo heteroatómico

e) en el caso de los disilazanos:

R_6Si_2NR'

en la que

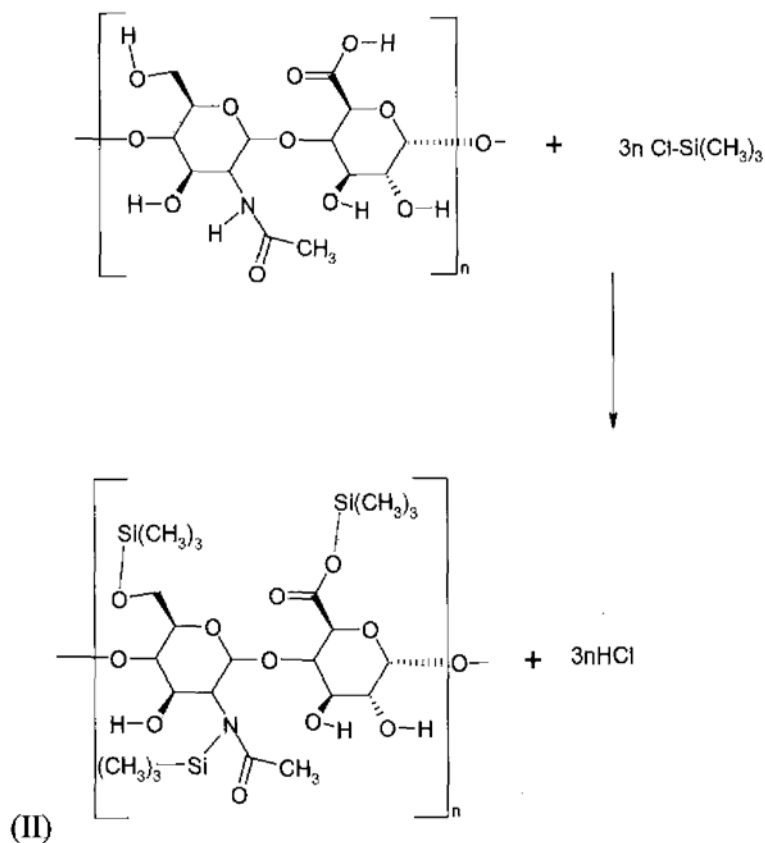
R se selecciona entre alquilo, arilo, grupo heteroatómico, también diferentes entre sí

10

R' se selecciona entre hidrógeno, alquilo, arilo, grupo heteroatómico.

A modo de ejemplo, a continuación se indica la reacción entre el ácido hialurónico y tres moléculas de trimetilclorosilano en la calidad del derivado reactivo de silicio según la fórmula general a) anteriormente mencionada. El derivado reactivo de silicio reacciona con los tres tipos de hidrógeno activo presentes en el ácido hialurónico, es decir, hidrógeno de hidroxilo, de amida y de carboxilo.

15

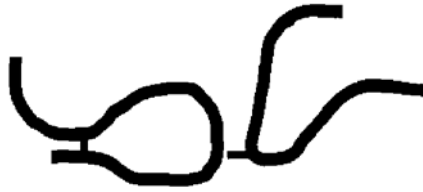


Por lo tanto, en el ejemplo recién mostrado, el derivado silílico de polisacárido según la presente invención será el compuesto (II), que está representado por una unidad de repetición del ácido hialurónico, derivado con silicio, dando lugar a un compuesto polisacárido derivado con al menos un átomo de silicio (Si).

20

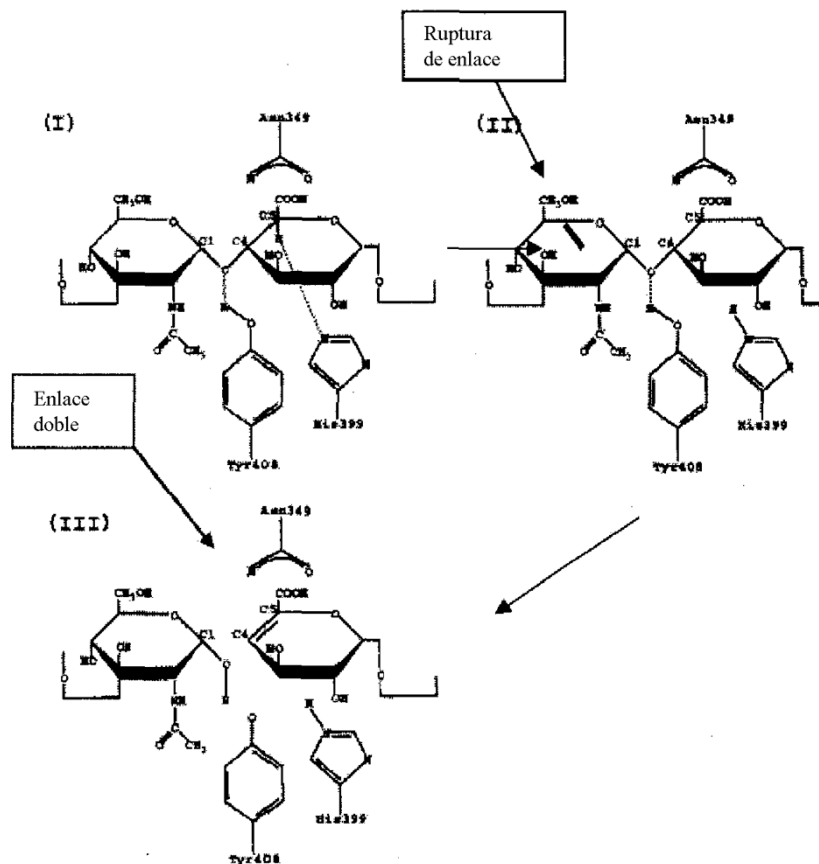
De nuevo en el caso del ácido hialurónico, el uso de un compuesto reactivo de silicio en forma de silano halógeno dará lugar a un derivado silílico que puede experimentar fenómenos de reticulación entre dos cadenas adyacentes y/o entre dos puntos de la misma cadena, según se muestra en el siguiente diagrama:

Derivado silílico de ácido hialurónico obtenido mediante el uso de un diclorosilano



Esta característica de reticulación adicional soporta, además, la característica de la molécula de ácido hialurónico de disponerse según una configuración de "ovillo de lana". Por lo tanto, en estas condiciones el derivado silílico reticulado de ácido hialurónico es capaz de absorber volúmenes aún mayores de agua con respecto a su correspondiente derivado silílico no reticulado. En consecuencia, esto se traduce en una actividad mejorada y en mayor estabilidad.

De hecho, el ácido hialurónico es susceptible a un ataque enzimático, con la consiguiente degradación y destrucción de la molécula. En particular, el ácido hialurónico sufre el ataque de la enzima hialuronidasa según un diagrama que puede simplificarse como sigue: Se rompe la cadena de ácido hialurónico y se forma un doble enlace.

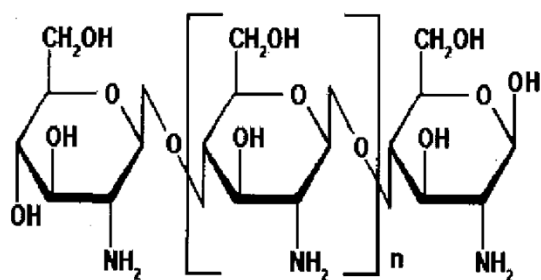


Por lo tanto, el ataque de la enzima hialuronidasa, que interactúa con los grupos carboxilo del ácido hialurónico, provoca la ruptura de la molécula.

Si los mismos grupos carboxilo son al menos parcialmente derivados y modificados dando un derivado silílico, la enzima hialuronidasa ya no puede interactuar con ellos y, por lo tanto, es incapaz de realizar su acción de degradación y de provocar la ruptura de la molécula. En consecuencia, el ácido hialurónico permanece intacto y puede llevar a cabo su acción un periodo de tiempo mayor, dado que ya no está sujeto a degradación enzimática.

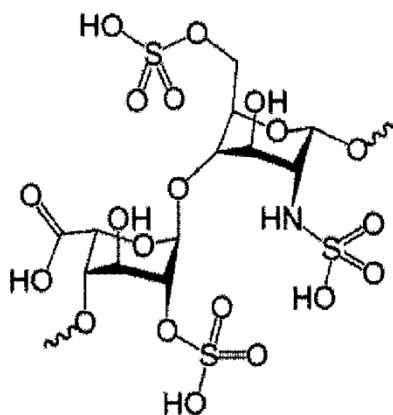
De la misma manera, en general los polisacáridos tienden a ser fácilmente susceptibles al ataque enzimático y a la consiguiente degradación en productos secundarios. Por lo tanto, también en este caso sus correspondientes derivados silílicos son compuestos "protegidos" y, no estando sujetos a ataque enzimático ni a la consiguiente degradación, sus características permanecen inalteradas durante un periodo prolongado de tiempo.

Los correspondientes derivados silílicos del quitosán, no según la presente invención, en los que un grupo sililo está unido al oxígeno del hidroxilo y/o al nitrógeno del grupo amina, se caracterizan por actividades biológicas y propiedades físico-químicas modificadas.



Quitósán

En el caso de las heparinas, no según la presente invención, compuestos de la familia de los glucosaminoglicanos usados de forma generalizada como anticoagulantes inyectables, los correspondientes derivados silícicos en los que el silicio ha sustituido algunos grupos funcionales de las heparinas se caracterizan por actividades biológicas y propiedades físico-químicas modificadas.



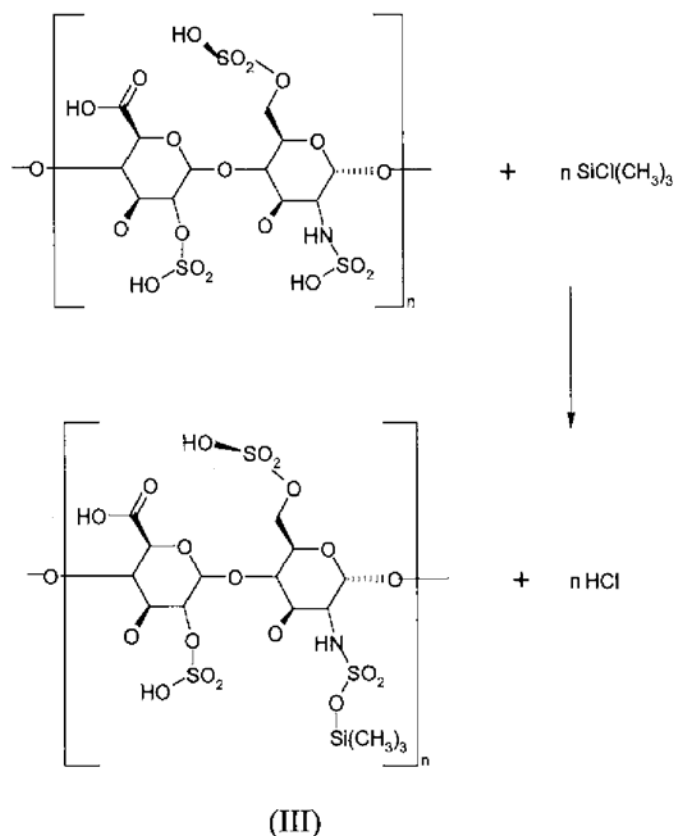
Heparina

- 5 A modo de ejemplo, no según la presente invención, a continuación se muestra el diagrama relativo a la preparación del correspondiente derivado silícico de la heparina.

En este caso, el derivado reactivo de silicio, es decir, el trimetilclorosilano, reacciona con un grupo sulfato presente en la heparina.

- 10 En función de la relación molar usada y de las condiciones de reacción, la reacción puede ocurrir en algunas unidades de repetición presentes en la cadena polimérica.

Preferiblemente, la reacción tiene lugar en el grupo que contiene el hidrógeno (ácido) más activo, y ubicado en una posición con el menor impedimento estérico.



Según la presente invención, el procedimiento para la preparación de derivados silílicos de ácido hialurónico permite que la reacción entre dicho ácido hialurónico y dichos derivados reactivos de silicio - por ejemplo, silanos - tenga lugar en un medio anhidro en fase heterogénea; por ejemplo, en fase líquido-sólido o gas-sólido.

5 La reacción se realiza de tal modo que no se produzca silanización - es decir, la sustitución de al menos un grupo funcional con al menos un átomo de silicio, de todos los grupos disponibles de ácido hialurónico -, para evitar la modificación excesiva de las propiedades de la molécula de partida.

10 En la práctica, con el procedimiento según la invención, es posible obtener un derivado silílico de ácido hialurónico caracterizado porque se produzca silanización - es decir, derivación con al menos un átomo de silicio - únicamente en parte de los grupos funcionales disponibles (hidroxilo, carboxilo, amina, sulfato) de la unidad de repetición, en todas las unidades de repetición o solo en algunas.

Los derivados silílicos según la presente invención presentan mayor resistencia a la destrucción enzimática con respecto al ácido hialurónico de partida y modificaciones significativas de las características físico-químicas.

15 Con referencia a las Figuras 1 y 2 adjuntas, la Fig. 1 muestra el diagrama de un reactor gas-sólido adecuado para llevar a cabo reacciones según el procedimiento de la invención, mientras que la Fig. 2 muestra el diagrama de un reactor líquido-sólido, de nuevo adecuado para llevar a cabo reacciones según el procedimiento de la invención.

En términos generales, los reactivos son puestos en contacto durante unas decenas de minutos a temperatura ambiente.

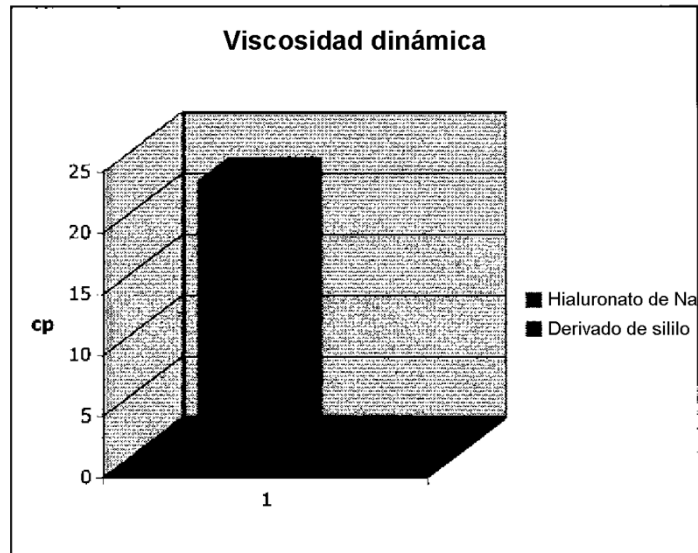
La variación en la relación en peso de los derivados de polisacáridos/silicio hace posible obtener una notable variedad de productos con diferente grado de silanización.

20 Se ha observado con sorpresa que la reacción de "silanización" modifica muchas propiedades físico-químicas de los derivados silílicos según la presente invención; por ejemplo, disminuye muchísimo la viscosidad, disminuye el radio de giro del polímero y, por lo tanto, su estructura espacial, aumenta la resistencia a la destrucción enzimática, modifica los tiempos de relajación en agua y, por lo tanto, el derivado silanizado resultante tiene un comportamiento semejante a un líquido, a diferencia del comportamiento nativo similar a un sólido.

25 También se ha observado que estas modificaciones estructurales debidas a la reacción de "silanización" también causan modificaciones consiguientes de la actividad biológica de los compuestos.

Para destacar las diferencias entre el compuesto polisacárido de partida y su derivado silanizado o derivado silílico según la presente invención, se muestra a continuación la significativa diferencia en viscosidad dinámica encontrada para el hialuronato de sodio (sal sódica del polisacárido, también representada como HA Na) y su correspondiente derivado silílico según la invención.

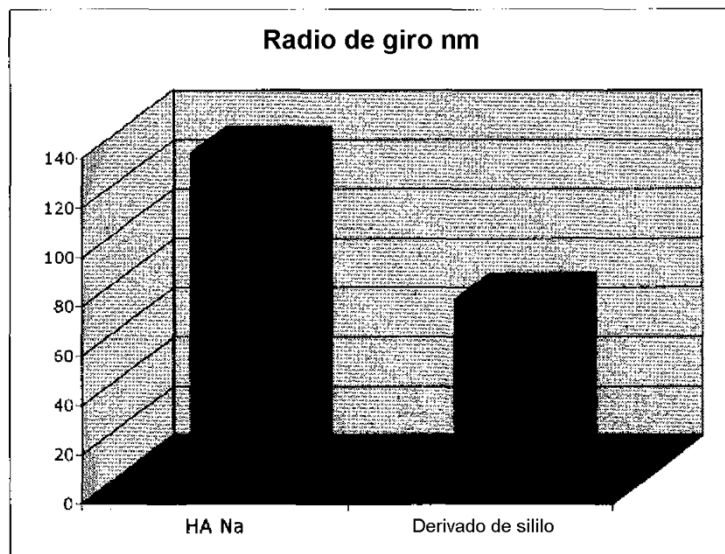
5 Viscosidad dinámica



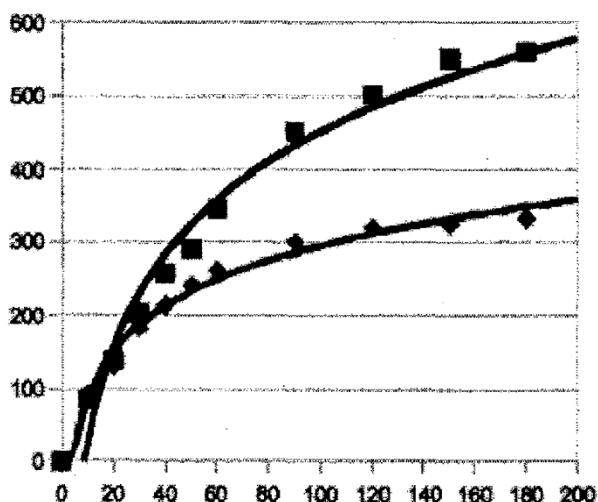
La viscosidad dinámica de las soluciones en agua al 0,5% del hialuronato de sodio es igual a 22,8 cp, mientras que la viscosidad dinámica del correspondiente derivado silílico según la presente invención es igual a 1,69 cp.

10 Asimismo, se adjuntan los siguientes gráficos para mostrar, en relación con una serie de parámetros usados normalmente para evaluar las características físico-químicas de los polímeros, las diferentes propiedades y, en consecuencia, las diferentes características que distinguen a los polisacáridos y sus sales de los correspondientes derivados silanizados o derivados silílicos de los mismos según la presente invención.

RADIO DE GIRO	
HA Na	134 nm
Derivado silílico	74 nm



Destrucción con enzima hialuronidasa



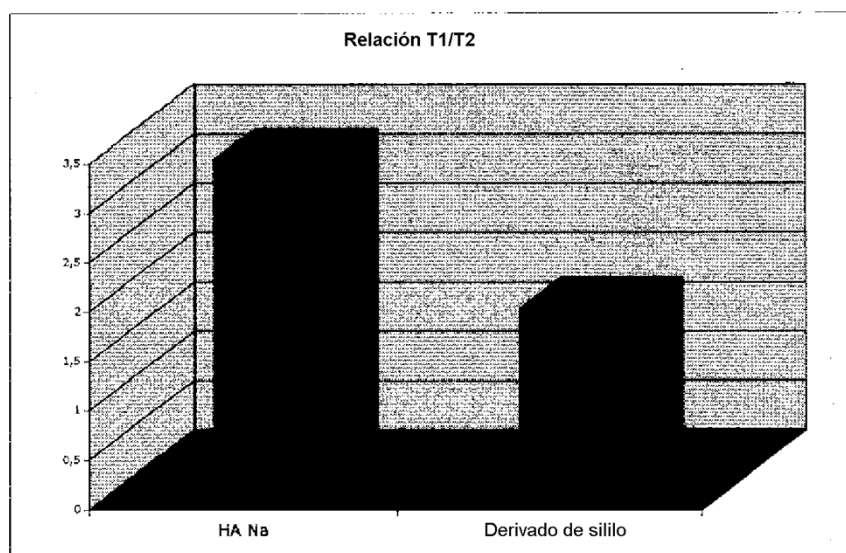
Velocidad de destrucción (en la ordenada) abs/tiempo (en la abscisa)

Símbolo de “cuadrado”: Destrucción del hialuronato de Na

Símbolo de “rombo”: Destrucción del derivado de sililo

Abs = absorbancia El tiempo se expresa en minutos

Tiempos de relajación



Los tiempos de relajación en agua, indicados como T1 y T2, indican mayor movilidad del agua en el derivado silílico según la presente invención (HA silílico), en comparación con la sal sódica de ácido hialurónico no silanizado (HA Na). Por lo tanto, el derivado silanizado según la invención tiene un comportamiento similar a un líquido (es decir, un comportamiento similar al de un compuesto en estado líquido), mientras que el polisacárido de partida tiene un comportamiento similar a un sólido (es decir, un comportamiento similar al de un compuesto en estado sólido).

5

TIEMPO DE RELAJACIÓN			
HA Na	T1 3200	T2 970	T1/T2 3,3
HA silílico	T1 2800	T2 1550	T1/T2 1,8

Reacciones de síntesis

La reacción heterogénea líquido-sólido se lleva a cabo usando líquidos que tienen la característica de no ser disolventes de los derivados de silicio ni de los polisacáridos, mientras que tienen la característica de ser disolventes del agente silanizante, que no tienen ningún hidrógeno activo y son químicamente inertes contra los reactivos (derivados de silicio, polisacáridos y agentes silanizantes) y los productos de reacción.

10

Para este fin pueden usarse hidrocarburos alifáticos, aromáticos y heteroaromáticos, también halogenados, seleccionados, por ejemplo, entre: éter de petróleo, pentano, hexano, ciclohexano, heptano, octano, isooctano, benceno, tolueno, xileno, etilbenceno, tetracloruro de carbono.

15

Para obtener variaciones en los productos obtenidos, pueden introducirse en el sistema de reacción pequeñas cantidades de compuestos con hidrógenos activos, tales como agua (generalmente siempre presente como impureza), etanol, metanol, aminas, amidas o ácidos. Siempre según la presente invención, algunos ejemplos de derivados reactivos de silicio son compuestos seleccionados entre:

- 5 – trimetilclorosilano
- dimetildiclorosilano
- metiltriclorosilano
- 10 – trietilclorosilano
- dietildiclorosilano
- 15 – etiltriclorosilano
- trimetilsilanol
- dimetilsilanodiol
- 20 – trimetilsilazano
- hexametildisilazano
- 25 – N-metil-N-trimetilsilil-acetamida
- N-metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida
- N,O-bis-trimetilsilil-acetamida
- 30 – N,O-bis-trimetilsilil-trifluoroacetamida
- N-trimetilsilil-dietilamina
- 35 – N-trimetilsilil-imidazol.

Para desplazar el equilibrio de la reacción hacia la derecha, es decir, para favorecer los productos de reacción de derivados silanizados de los polisacáridos de partida con el fin de obtener un producto con silanización elevada, se usan con ventaja bases sin hidrógenos activos; por ejemplo: trimetilamina, trietilamina, piridina.

40 Con referencia a la anterior descripción, meramente a modo de ejemplo no limitante, a continuación se dan algunos ejemplos de reacciones para obtener los derivados silícicos de polisacáridos según la presente invención.

Ejemplo 1

Silanización del ácido hialurónico

Se suspende 1 g de hialuronato de sodio en polvo fino agitando en 20 cm³ de n hexano.

45 Se añaden lentamente 5 ml de una solución de n hexano que contiene 1 ml de diclorodimetilsilano. Esto se mantiene en agitación durante 60 minutos.

Se filtra y el sólido se lava sobre un filtro con n hexano hasta una reacción neutra. Alternativamente, puede lavarse con metanol o con etanol hasta un pH neutro. Subsiguientemente, el producto es secado al vacío a una temperatura de 30°C.

50 La reacción produce un bajo rendimiento de silanización; de promedio, se silaniza una unidad de repetición de ácido hialurónico cada 20-50.

Para obtener una silanización más eficaz y completa, la reacción se realiza con ventaja bajo un flujo de nitrógeno o de otro gas inerte seco, en presencia de una base sin hidrógenos activos.

La base - por ejemplo, trietilamina - reacciona con el ácido halogenhídrico producido por silanización con un silano organohalógeno.

El trietilamonio formado puede sustituir parcialmente el sodio en la salificación del grupo carboxilato del ácido hialurónico.

El nuevo contraión modifica las propiedades físico-químicas del derivado tanto en términos del mayor impedimento estérico con respecto al sodio como de las interacciones con puentes de hidrógeno. Se usan los equipos indicados en las Figuras 1 y 2.

Ejemplo 2

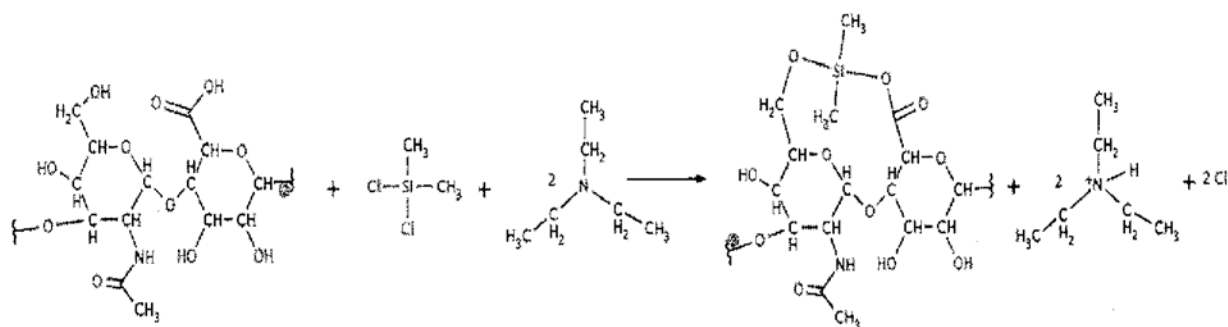
Silanización del ácido hialurónico en presencia de una base

Se añaden 4,4 ml de trietilamina con agitación a 80 ml de n hexano, seguido por 1 g de hialuronato de Na en polvo y 2 ml de $(\text{CH}_3)_2\text{SiCl}_2$ disueltos en 6 ml de n hexano. Esto se mantiene en agitación durante 1 hora, a 30°C y luego se filtra al vacío y se lava con hexano + 1% de trietilamina; se vierte una mezcla de metanol + 10% de trietilamina sobre el precipitado y se mantiene en contacto durante 5 minutos y luego se filtra y se lava con hexano.

Subsiguientemente, el producto es secado al vacío a una temperatura de 30°C .

De promedio, se silaniza una unidad de repetición de ácido hialurónico cada 4.

Se producen las reacciones siguientes:

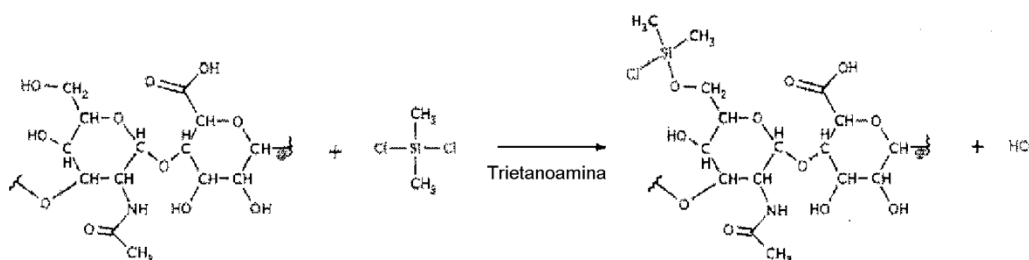


El ejemplo muestra una reacción de silanización del grupo carboxilo y de un grupo hidroxilo de la misma unidad de repetición.

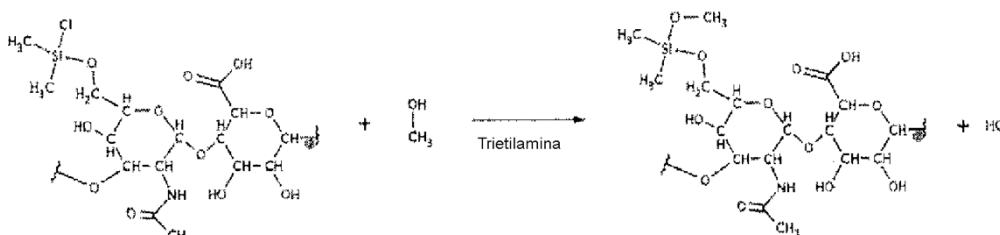
Sin embargo, también puede producirse la reacción de silanización entre 2 grupos (hidroxilo y/o carboxilo) de unidades adyacentes o de cadenas adyacentes.

En este último caso, se obtiene el producto reticulado.

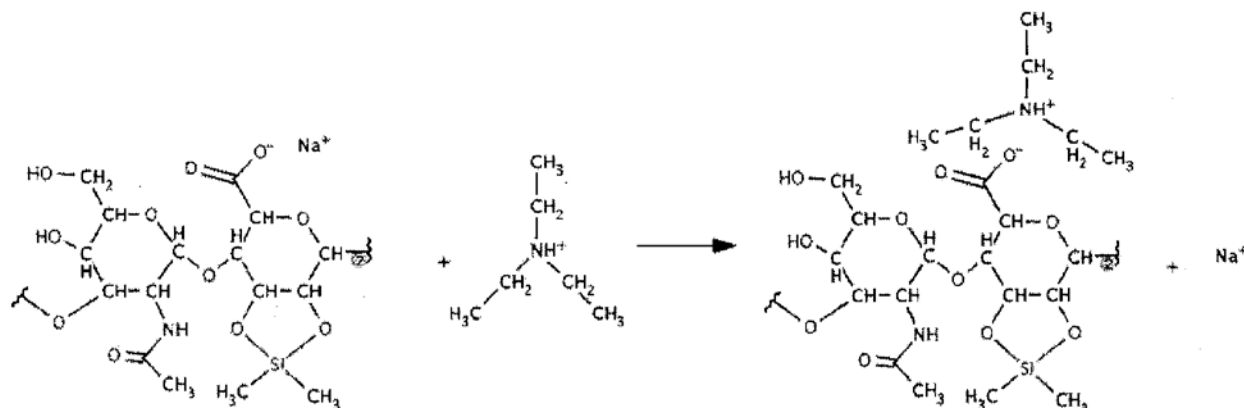
De nuevo a modo de ejemplo, se muestran otras reacciones que pueden producirse durante la reacción principal cuando el producto es tratado con metanol.



El cloro sin reaccionar es sustituido por reacción con metanol y se forma un grupo metoxisilano:



El sodio que salifica el grupo carboxilo puede así ser sustituido por el trietilamonio formado durante la reacción:



Ejemplo 3 no según la presente invención

Silanización del almidón

Se suspende 1 g de almidón en polvo fino agitando en 20 cm³ de n hexano.

- 5 Se añaden lentamente 5 ml de una solución de n hexano que contiene 1 ml de diclorodimetilsilano.

Se mantiene en agitación durante 15 minutos.

El sólido es filtrado y lavado sobre un filtro con n hexano hasta una reacción neutra. Alternativamente, puede lavarse con etanol hasta un pH neutro.

Subsiguientemente, el producto es secado al vacío a una temperatura de 40°C.

- 10 Ejemplo 4 no según la presente invención

Silanización del almidón en presencia de una base

Se añaden 4,4 ml de trietilamina con agitación a 80 ml de n hexano, seguido por 1 g de almidón en polvo y 2 ml de (CH₃)₂SiCl₂ disueltos en 6 ml de n hexano. Esto se mantiene en agitación durante 2 horas, a 40°C y luego se filtra al vacío y se lava con hexano + 1% de trietilamina; se vierte una mezcla de metanol + 10% de trietilamina sobre el precipitado y se mantiene en contacto durante 10 minutos y luego se filtra y se lava con hexano.

- 15

La trietilamina y su sal son eliminadas completa o parcialmente durante el lavado con metanol y hexano.

La trietilamina que no se elimina forma un complejo molecular con el almidón silanizado por medio de puentes de hidrógeno.

- 20 Cambiando las proporciones entre reactivos, los tiempos de reacción y la temperatura, es posible obtener un grado de silanización diferente.

Los derivados silílicos según la invención, que también están representados con el término SILHADE [DERivado SILílico de Ácido Hialurónico, por sus siglas en inglés], que no debe interpretarse que sea limitante en modo alguno, se usan con ventaja en el campo cosmético y/o farmacéutico.

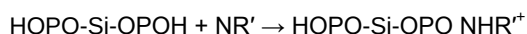
- 25 Por ejemplo, en el caso de derivados silílicos de ácido hialurónico, el uso en el campo cosmético hace posible lograr excelentes resultados y un efecto que es mucho más duradero que el obtenido con los mismos tratamientos realizados con ácido hialurónico por sí solo.

Se obtienen resultados análogos para el uso en el campo farmacéutico - por ejemplo, para tratar trastornos articulares -, en el campo de la oftalmología y/o de la otología.

- 30 Los derivados silílicos según la invención pueden ser formulados convenientemente como principios activos en composiciones cosméticas y/o farmacéuticas adecuadas, tal cual y/o en forma de sales.

En particular, con respecto a las formas salinas de los derivados según la invención, un aspecto adicional de la presente invención está representado por las sales entre los derivados silílicos de fórmula (I e I') y los aminoácidos y/o las bases de purina y pirimidina. Dichos compuestos, en condiciones apropiadas, pueden formar sales con los derivados silílicos de polisacáridos que forman el contenido de la invención, según la reacción esquematizada a continuación:

- 35



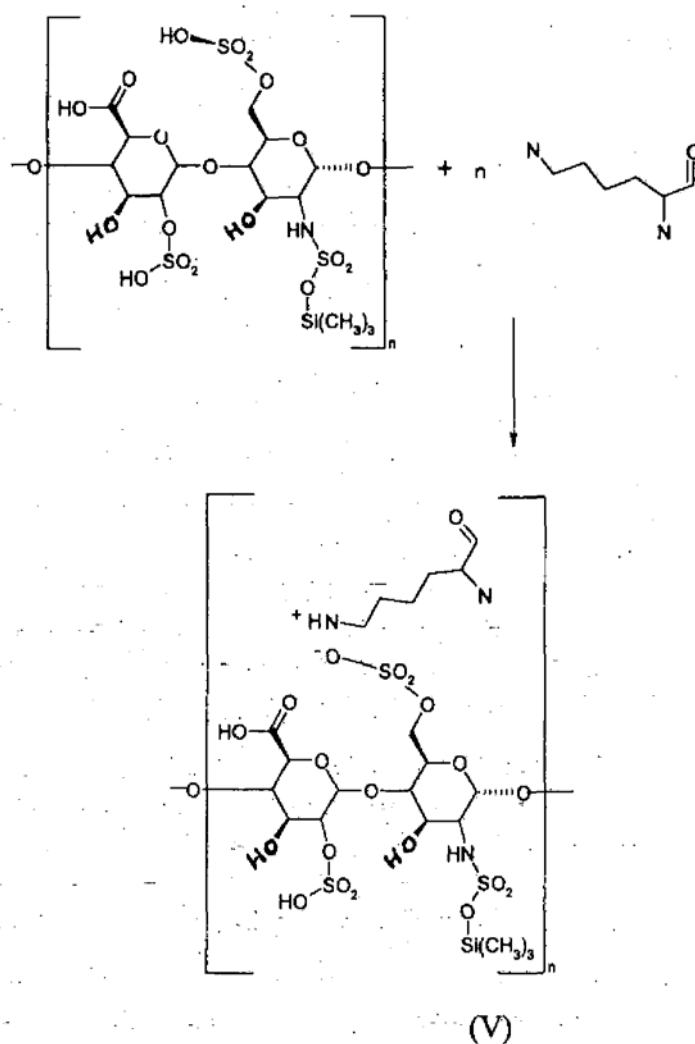
En este caso, HOPO-Si-OPOH (IV) representa un derivado silílico de polisacárido (o polisacárido silanizado) según la invención, en la cual se destaca el hidroxilo del grupo ácido y NR' es un aminoácido o una base nitrogenada.

5 Debe tenerse en cuenta que esta etapa adicional para formar sales con aminoácidos o bases nitrogenadas implica la formación de un enlace iónico y no de uno covalente.

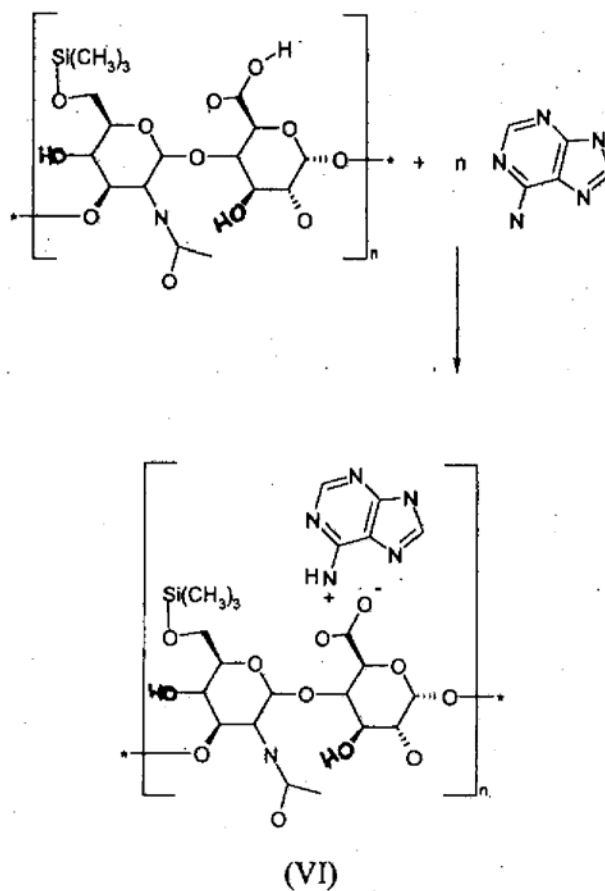
De hecho, para los fines de la presente invención, en un enlace iónico los átomos están unidos entre sí por la atracción de iones con carga opuesta, mientras que en un enlace covalente los átomos están unidos porque comparten electrones.

10 Los aminoácidos y las bases de purina y pirimidina también pueden formar uniones con puentes de hidrógeno con los polisacáridos silanizados.

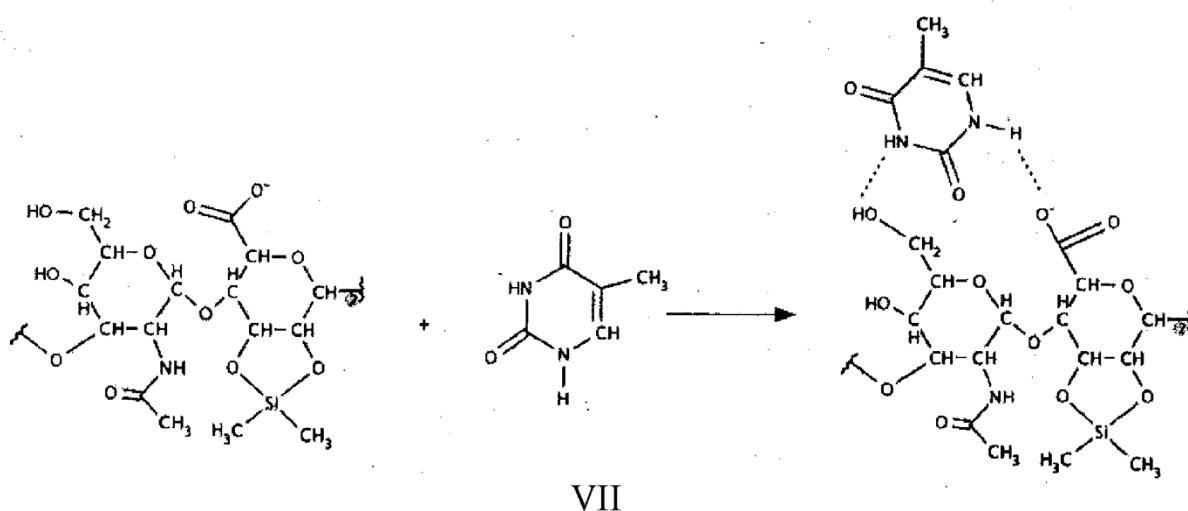
A modo de ejemplo y no según la presente invención, a continuación se indica el esquema para obtener una heparina silanizada y además salificada con lisina (V).



En vez de ello, el siguiente ejemplo muestra la estructura del producto (VI) obtenido por una reacción entre éter trimetilsilílico del ácido hialurónico y adenina.



Se muestra la estructura obtenida por la salificación del diéter trimetilsilílico del ácido hialurónico con timina:



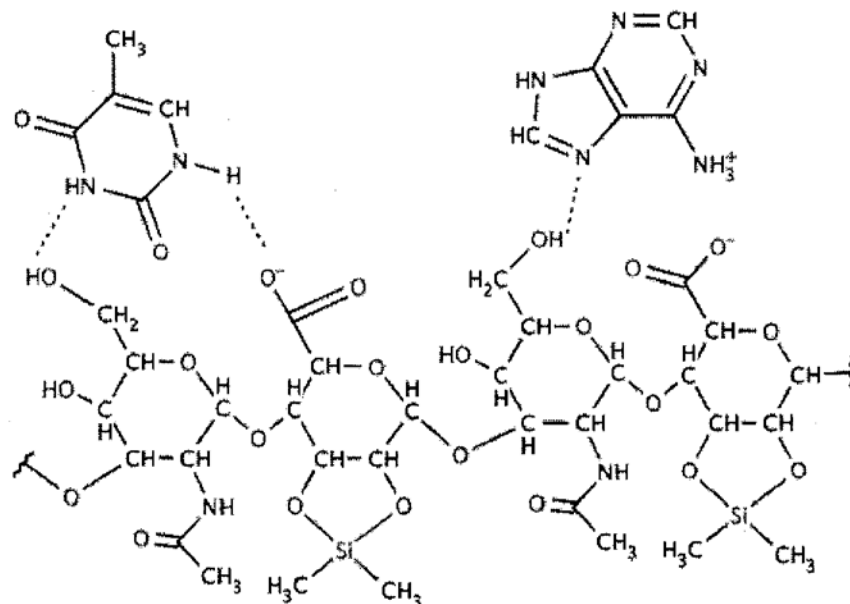
Las interacciones entre el ácido hialurónico silanizado y la timina se producen esencialmente a través de la formación de puentes de hidrógeno.

5 Siempre según la presente invención, también pueden obtenerse derivados formados entre el sililo del ácido hialurónico y varias bases simultáneamente. De nuevo a modo de ejemplo, se indica la estructura del diéter dimetildisilílico del ácido hialurónico con adenina más timina.

En el ejemplo mostrado, cada unidad de repetición está coordinada con una base, aunque también pueden obtenerse derivados en los que no todas las unidades de repetición están ocupadas con una base.

No es preciso que las bases requieran necesariamente ser usadas en una proporción de 1:1.

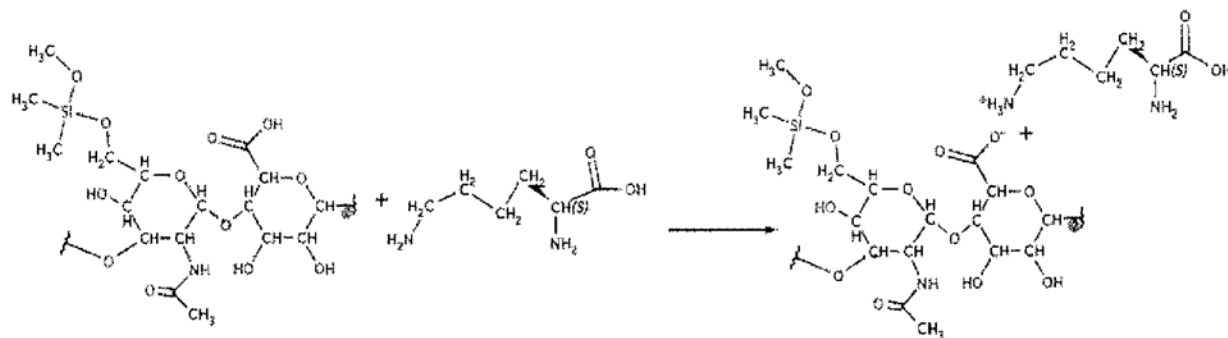
Estas variaciones permiten la modulación de las propiedades de los derivados obtenidos según las reacciones descritas anteriormente, llevadas a cabo en las condiciones predeterminadas dadas.



VIII

Diéter dimetildisilfíco de ácido hialurónico con adenina + timina

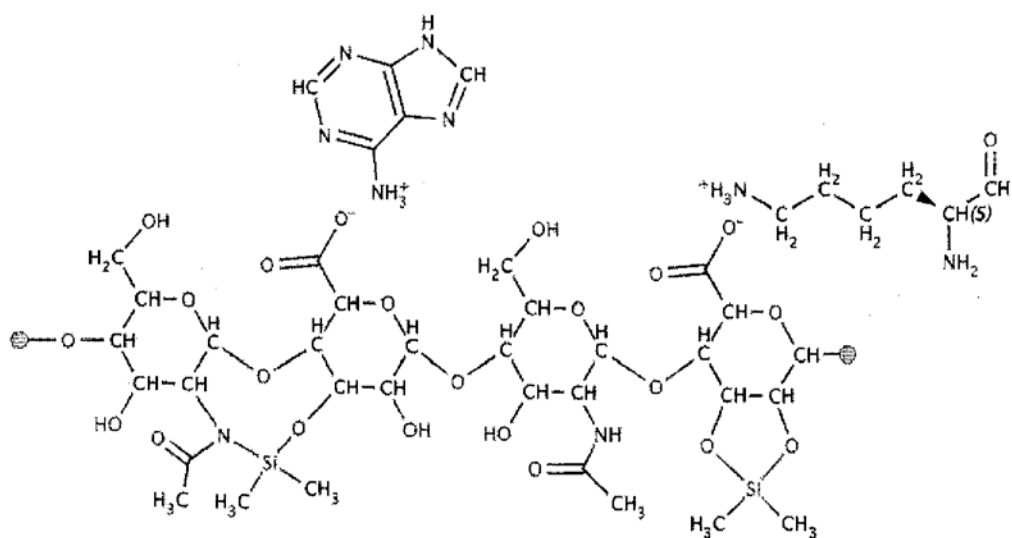
- 5 Reacción de salificación de un derivado silfíco de ácido hialurónico con lisina.



IX

Dimetil-sililmetoxi-sililéter de hialuronato de lisina

Se indica a modo de ejemplo la salificación del derivado silfíco de ácido hialurónico con adenina y lisina. En el ejemplo, el derivado silfíco de ácido hialurónico es salificado con adenina y lisina en la proporción molar lisina/adenina = 1:1.



X

Siempre según la invención, los aminoácidos y/o las bases nitrogenadas que se usan para obtener los productos de salificación de los derivados silícicos de polisacáridos según la invención se seleccionan entre:

Aminoácidos:

- Alanina
- 5 Arginina
- Asparagina
- 10 Ácido aspártico
- Cisteína
- Fenilalanina
- 15 Glicina
- Ácido glutámico
- 20 Isoleucina
- Histidina
- Leucina
- 25 Lisina
- Metionina
- 30 Prolina
- Serina
- Tirosina
- 35 Treonina
- Triptófano

Valina

Polilisina

Bases de purina y pirimidina:

5 Adenina

Guanina

Timina

10 Citosina

5,6-dihidrouracilo

15 1-metiluracilo

3-metiluracilo

5-hidroximetiluracilo

20 2-tiouracilo

N⁴-acetilcitosina

25 3-metilcitosina

5-metilcitosina

5-hidroximetilcitosina

30 1-metiladenina

2-metiladenina

35 7-metiladenina

N⁶-metiladenina

N⁶,N⁶-dimetiladenina

40 N⁶-(Δ^2 -isopentenil)adenina

1-metilguanina

45 7-metilguanina

N²-metilguanina

N²,N²-dimetilguanina

50 Ejemplo 5

Reacción entre adenina y éter trimetilsilílico de ácido hialurónico para obtener trimetilsilil éter hialuronato de adenina (VI)

Se hace reaccionar 1 g de éter trimetilsilílico de hialuronato de sodio con 0,20 g de clorhidrato de adenina hemihidratado.

55 La preparación del producto tiene lugar según las siguientes etapas:

a) preparación de la solución de clorhidrato de adenina hemihidratado

b) adición del éter trimetilsilílico de hialuronato de sodio

c) liofilización del producto.

Se disuelven 2 g de adenina en 400 ml de agua desionizada.

Se añaden lentamente 10 g de éter trimetilsilílico de hialuronato de sodio a la solución con agitación. Subsiguientemente, la solución se mantiene con agitación durante aproximadamente 1 hora, obteniendo la completa
5 homogeneización del producto, luego se lo deja reposar en un refrigerador a 5°C durante 12 horas, seguido por la liofilización del producto.

Ejemplo 6

Reacción entre lisina y éter trimetilsilílico de ácido hialurónico para obtener trimetilsilil éter hialuronato de lisina (IX)

Se hace reaccionar 1 g de éter trimetilsilílico de hialuronato de sodio con 0,4 g de clorhidrato de lisina.

10 La preparación del producto tiene lugar según las siguientes etapas:

d) preparación de la solución de clorhidrato de lisina

e) adición del éter trimetilsilílico de hialuronato de sodio

15 f) liofilización del producto.

Se disuelven 0,4 g de clorhidrato de lisina en 50 ml de agua desionizada.

Se añade lentamente 1 g de éter trimetilsilílico de hialuronato de sodio a la solución con agitación. Subsiguientemente, la solución se mantiene con agitación durante aproximadamente 1 hora, obteniendo la completa
20 homogeneización del producto, luego se lo deja reposar en un refrigerador a 5°C durante 12 horas, seguido por la liofilización del producto.

Ejemplo 7

Reacción entre diéter dimetilsilílico de ácido hialurónico con adenina + timina (VIII)

Se hace reaccionar 1 g de diéter dimetilsilílico de ácido hialurónico con 0,15 g de adenina y 0,14 g de timina.

La preparación del producto tiene lugar según las siguientes etapas:

25 g) preparación de la solución de adenina y timina

h) adición del diéter dimetilsilílico de ácido hialurónico

i) liofilización del producto.

30 Se disuelven 0,15 g de adenina y 0,14 g de timina en 100 ml de agua desionizada.

Se añade lentamente 1 g de diéter dimetilsilílico de ácido hialurónico a la solución con agitación. Subsiguientemente, la solución se mantiene con agitación durante aproximadamente 1 hora, obteniendo la completa homogeneización del producto, luego se lo deja reposar en un refrigerador a 5°C durante 12 horas, seguido por la liofilización del producto.

35 Como ya se ha indicado, el ácido hialurónico (HA) es usado de forma notoria en la regeneración y la reparación de tejido dañado en diversos ámbitos, tanto por su presencia en la matriz extracelular, como constituyente fundamental, como por el papel activo que desempeña en respuesta a lesiones tisulares.

De hecho, en la fase de respuesta inflamatoria a la lesión, la matriz es rica en ácido hialurónico y fibrina, con intensa migración de fibroblastos y células endoteliales a la zona lesionada.

40 El ácido hialurónico permite un entorno bioquímico que es favorable a la migración celular, estando su acción dirigida a "capturar" radicales libres e inhibir la libre circulación de proteínas en la región pericelular, llevando a cabo una acción protectora contra lesiones derivadas de procesos oxidativos o de proteólisis enzimática, contribuyendo a la fase de desactivación del proceso inflamatorio interactuando con la cascada de citoquinas antiinflamatorias.

45 Su papel en procesos fisiológicos que llevan a la regeneración tisular deriva de sus propiedades higroscópicas, viscoelásticas y angiomoduladoras, y de su capacidad de influir en las funciones de la célula, debido a receptores específicos en la membrana celular.

Los nuevos derivados silílicos de ácido hialurónico según la presente invención, indicados anteriormente con el acrónimo HA silílico y con el término SILHADE, mantienen las características biológicas del ácido hialurónico y los

efectos del mismo indicados anteriormente. Sin embargo, su estructura particular, la presencia de sustituyentes particulares, los enlaces químicos específicos y los contraiones particulares, así como sus características físico-químicas, producen una acción biológica diferente y más potente que la del ácido hialurónico tal cual o de sus sales en las enfermedades examinadas.

- 5 Los derivados según la invención hacen posible lograr mayor eficacia terapéutica y pueden ser administrados en diversas formulaciones, también en forma de sales complejas; por ejemplo, con aminoácidos y/o purinas y pirimidinas. Además, los derivados SILHADE según la invención pueden ser usados con ventaja no solo localmente por aplicación tópica, sino también oralmente, con ventajas directas consiguientes en la restauración de la integridad de la mucosa intestinal y de sus funciones inmunológicas y endocrinas.

- 10 Los nuevos derivados según la invención entran en la estructura de las principales macromoléculas, como elastina, colágeno, proteoglicanos y glicoproteínas, promoviendo su regeneración.

- También llevan a cabo una acción reguladora en el metabolismo y la división celular, interactuando con procesos extra e intracelulares; inducen y modulan el control y la proliferación de fibroblastos (células que producen colágeno) en el ámbito del tejido conectivo y producen efectos regeneradores positivos en problemas de envejecimiento de la piel. Además, activan la cicatrización de lesiones tróficas y vasculares, combatiendo el envejecimiento celular con una acción trófica ejercida sobre el endotelio y sobre las paredes del sistema vascular. Siempre según la invención, una acción adicional realizada por los derivados silícicos SILHADE es la de restaurar la elastina y las fibras de colágeno.
- 15

- También funcionan como protector metabólico, actuando en diversos ámbitos: se oponen a la peroxidación de lípidos, responsable de la liberación de radicales libres, y combaten la reticulación y la glicosilación no enzimática de las proteínas que forman el tejido conectivo, lo que causa rigidez y esclerosis, presentando también acción como neutralizadores de radicales libres.
- 20

Los productos de la invención regulan y estimulan la mitosis de fibroblastos y, debido a esta propiedad, desempeñan un papel de fundamental importancia en el proceso de regeneración de células de la dermis y la epidermis.

- 25 Además, los compuestos de la invención promueven la cicatrización de úlceras por presión y de úlceras vasculares o metabólicas.

El proceso de queratinización se correlaciona con la presencia de S.O y de ácido hialurónico.

- Los derivados silícicos que forman el contenido de la invención, también indicados con el término SILHADE, son particularmente útiles cuando se usan en el tratamiento de la paniculopatía y en la adiposidad localizada y generalizada, tanto en formulaciones para ampollas como en suplementos dietéticos administrados oralmente.
- 30

Los derivados silícicos según la invención son usados con ventaja en aplicaciones dermatológicas y, en particular, en la regeneración de la piel deteriorada, actuando sobre la estructura tridimensional de los componentes fundamentales; además, inducen una mejora significativa de las depresiones cutáneas; por ejemplo, en el caso de arrugas y de líneas periorcarias y perilabiales.

- 35 Retrasan y combaten el envejecimiento como fenómeno general, induciendo la limitación de la degeneración y la esclerosis del tejido conectivo y la activación de la microcirculación, y oponiéndose también a la formación de radicales libres.

Tienen una acción de mejora en las estrías (especialmente si son recientes) y en las cicatrices, y potencian la restauración y la reorganización dérmicas.

- 40 También poseen marcadas propiedades lipolíticas.

Esta cualidad, combinada con la actividad regeneradora del tejido conectivo y la ralentización de la degradación de las fibras de colágeno situadas entre los adipocitos, hace que los compuestos según la invención sean sumamente eficaces en situaciones en las que coexiste un componente de laxitud tisular y esclerosis.

- 45 Los compuestos según la invención también producen efectos regeneradores en úlceras por presión y activan la cicatrización de lesiones tróficas y vasculares, y combaten el envejecimiento celular con una acción trófica sobre el endotelio y sobre las paredes del sistema vascular.

También restauran la elastina y las fibras de colágeno.

- 50 En el ámbito farmacológico, en las diversas formulaciones, los derivados silícicos según la presente invención pueden ser aplicados con formulaciones tópicas, inyectables, en aerosol y orales, utilizables todas en el tratamiento de: acné, afecciones alérgicas cutáneas, artritis y artrosis, arteriosclerosis y úlceras vasculares, quemaduras, contusiones, sabañones, enfermedades inflamatorias gastrointestinales, paniculopatía edematosa y esclerótica, vaginitis y mucositis vaginal, diabetes y pie diabético, eczema, úlceras por presión, edema, hemorroides y proctitis,

osteoporosis, inflamación de las encías, problemas respiratorios (asma, EPOC, bronquitis aguda, bronquitis recurrente), psoriasis, sinusitis, trastornos digestivos causados por gastritis, duodenitis, úlceras, varices, envejecimiento cutáneo, mucositis consecuencia de la quimioterapia y la radioterapia, lesiones de la piel consecuencia de la radioterapia. También son usados ventajosamente como suplemento dietético durante la quimioterapia y la radioterapia y durante tratamientos de infertilidad masculina y femenina.

A continuación se exponen los resultados de algunos estudios relativos a la experimentación *in vitro* sobre la modulación de los derivados silanizados según la invención en inflamaciones y reacciones de citoquinas.

Objetivo del estudio: derivados silílicos según la invención SILHADE y producción de tFN e IL-1 en la reacción inflamatoria.

- 10 Se llevó a cabo un estudio *in vitro* para evaluar el papel de los derivados silílicos de la invención en la respuesta inmunitaria en la activación de la cascada citoquímica.

Los ensayos llevados a cabo en células dendríticas mostraron una mayor estimulación de las mismas para determinar la activación de los receptores cd80, cd86 y cd86/ICAM 1 y, por lo tanto, para desencadenar una respuesta inmunitaria.

- 15 En fisiología, la reacción inflamatoria está ligada a etapas específicas y conocidas que suceden a raíz del reconocimiento del antígeno o de los daños de la lesión e intenta aislar el antígeno y reparar la lesión. Esto tiene lugar con la cascada citoquímica específica, que determina el entorno inflamatorio de la futura evolución de la reacción.

- 20 Las poblaciones de Th1 y Th2 difieren en función de los estímulos inflamatorios y de las reacciones inmunitarias de los individuos.

Ahora se han reconocido las poblaciones de linfocitos que están implicadas en la maduración de las células dendríticas (Th17 y Th22).

- 25 El estudio de las citoquinas nos permite comprender el método con el que cada persona tiende a enfermar y, simultáneamente, nos permite comprender el mecanismo tanto de la estimulación de las células como de la influencia en la fase sol de la reacción inflamatoria; en otras palabras, cómo los derivados según la invención causan un mejor rendimiento en la evolución de la inflamación y cómo influyen en la transición de una fase sol a una fase gel, respetando los tiempos y sin producir péptidos naturales u otros productos de desecho.

Los experimentos en curso tienen como objetivo determinar:

- 30 – la visión general de la cascada inflamatoria y de citoquinas en las enfermedades dérmicas y epidérmicas y en enfermedades inflamatorias crónicas,
- la estandarización de la reacción inmunitaria y la implicación de la línea celular,
- 35 – la modificación del equilibrio de citoquinas después del contacto con los derivados silílicos de la invención tanto en el ámbito de ensayos de laboratorio como en el ámbito de la experimentación clínica.

Estudio sobre la regulación de procesos inflamatorios implicados en la remodelación tisular y en la cicatrización de heridas

- 40 Estudio del efecto de la regulación de la expresión por monocitos/macrófagos de metaloproteasas - tales como colagenasas, gelatinasas - implicadas en procesos de remodelación tisular. El estudio se realizó en monocitos de la sangre periférica de forma compatible con los resultados de toxicidad según el punto 1. El estudio consiste en tratar monocitos de la sangre periférica con los derivados silílicos de la invención (considerando la sal sódica de ácido hialurónico (HA-Na) como control) solos o en combinación con LPS como activadores de los monocitos y cuantificar la secreción de: MMP-1, MMP-2, MMP-9 y del inhibidor de metaloproteína TIMP-1. Estas moléculas desempeñan un papel esencial en la remodelación de la matriz extracelular en los procesos inflamatorios y en la cicatrización de
- 45 heridas. Se estimulan monocitos de la sangre periférica *in vitro* con LPS en presencia de un derivado silílico según la invención o de HA-Na como control y se cuantifica mediante ELISA la secreción de metaloproteinasas en los sobrenadantes del cultivo, determinando la influencia de los derivados SILHADE según la invención en la polarización de los linfocitos T a fenotipos funcionales específicos como Th1, Th2, Th17. Con este fin, se polarizan *in vitro* linfocitos T CD4⁺ no modificados en presencia de controles o de derivados silílicos según la invención. El
- 50 fenotipo funcional de estas líneas se caracteriza por reestimulación y tinción intracitoplasmática para determinar la producción de IFN- γ , IL-4, IL-17A, y para permitir la clasificación en las correspondientes subpoblaciones.

Ensayo sobre la producción de fibroblastos y sobre la síntesis de proteínas

Proliferación celular en diferentes momentos mediante el ensayo de MTT: ensayo de supervivencia celular después de la sincronización de ciclos con fibroblastos cultivados en adhesión para evaluar el potencial de proliferación celular inducido por el producto sometido a ensayo.

- 5 Incremento de proteínas totales mediante el ensayo de Bradford: ensayo para evaluar el contenido proteínico total en fibroblastos expuestos al producto en cuestión usando concentraciones escalares y diferentes tiempos de tratamiento.

Conclusiones

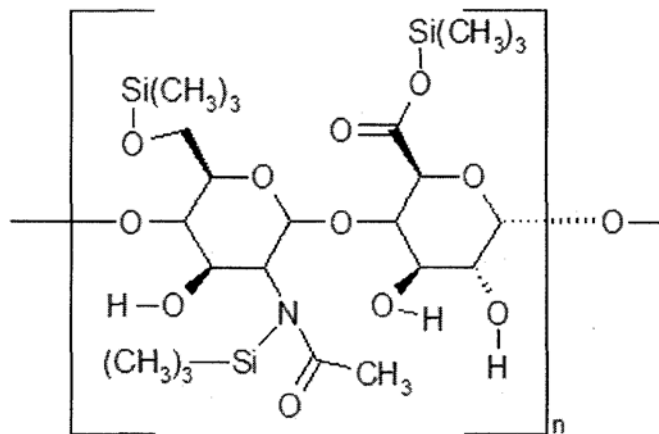
- 10 En fibroblastos tratados con la muestra correspondiente a los derivados silíceos según la invención, en particular compuestos según las estructuras (II), (VI), (VII), (VIII), (IX) y (X), hubo un aumento de proliferación (+40% máximo) y de síntesis proteínica (+18% máximo) con respecto a células no tratadas, en particular después de 24 horas de exposición.

Por lo tanto, los derivados silíceos según la invención tienen la capacidad de estimular tanto la proliferación como el incremento de síntesis proteínica en células características que forman la dermis y normalmente responsables de la síntesis de colágeno y elastina.

15

REIVINDICACIONES

1. Un derivado silílico de polisacárido de fórmula (II) que es un polisacárido derivado (POH y/o PNH), con al menos un átomo de silicio (Si) caracterizado porque dicho derivado silílico de polisacárido se deriva de una reacción entre dicho polisacárido y al menos un derivado reactivo de silicio seleccionado entre trimetilclorosilano, trimetilsilanol, trimetilsilazano, hexametildisilazano, siendo dicho polisacárido ácido hialurónico (HA)



(II)

2. Un procedimiento para la preparación de un derivado silílico de polisacárido según la reivindicación 1 que comprende una etapa de reacción entre dicho polisacárido y al menos un derivado reactivo de silicio seleccionado entre: trimetilclorosilano, trimetilsilanol, trimetilsilazano, hexametildisilazano, caracterizado porque dicha etapa de reacción entre dicho polisacárido y al menos un derivado reactivo de silicio tiene lugar en un entorno anhidro en fase heterogénea.

3. El derivado silílico de polisacárido como se reivindica en la reivindicación 1 para su uso en el campo cosmético y/o farmacéutico.

4. El derivado silílico de polisacárido como se reivindica en la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de enfermedades que afectan a la mucosa.

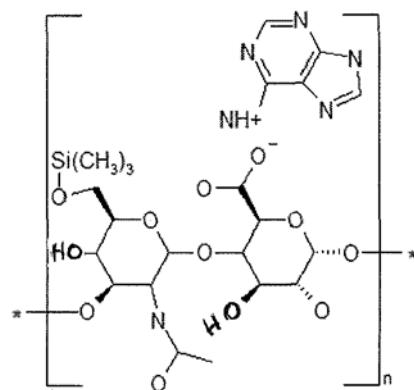
5. El derivado silílico de polisacárido como se reivindica en la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento del envejecimiento de la piel, de la dermatitis y en el tratamiento antienviejecimiento.

6. El derivado silílico de polisacárido como se reivindica en la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de artrosis primaria y secundaria y de enfermedades que afectan al cartílago articular.

7. Composiciones cosméticas y/o farmacéuticas que comprenden al menos un derivado silílico como se reivindica en la reivindicación 1, además de los excipientes y los ingredientes habituales.

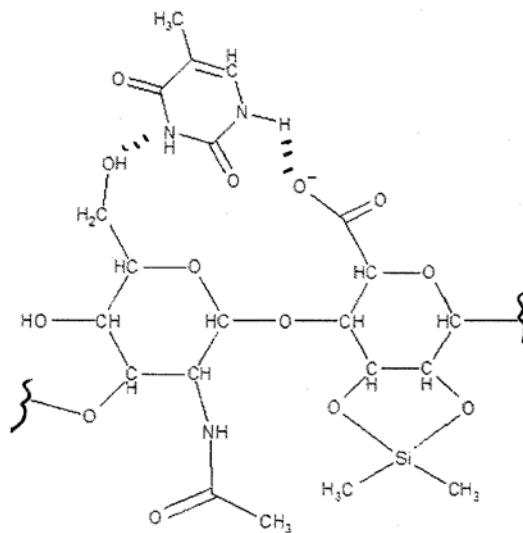
8. Sales entre al menos un derivado silílico de polisacárido como se reivindica en la reivindicación 1 y aminoácidos y/o bases de purina o bases de pirimidina.

9. Una sal entre adenina y ácido hialurónico silanizado de fórmula (VI)



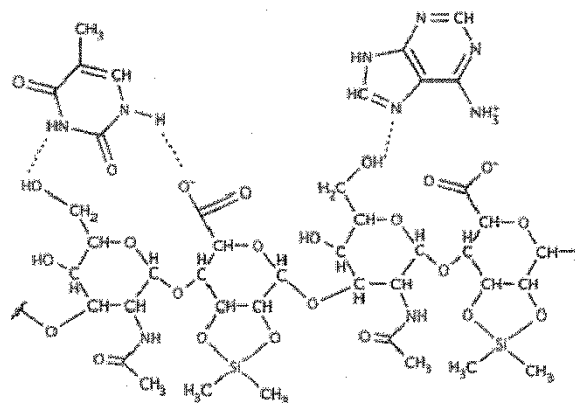
(VI)

10. Una sal entre timina y ácido hialurónico silanizado de fórmula (VII)



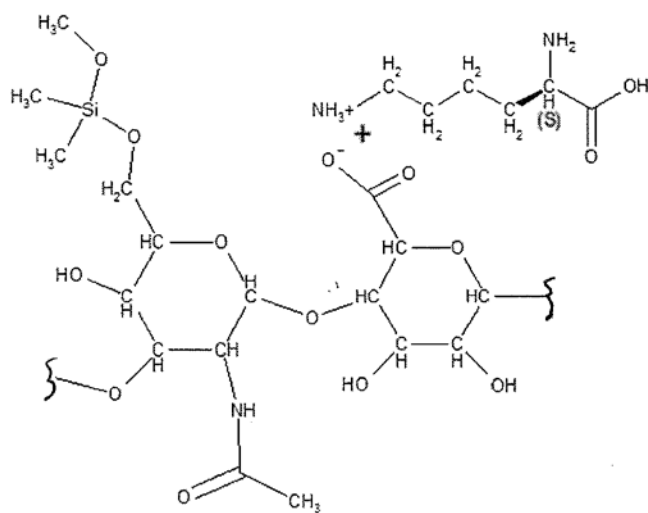
(VII)

11. Una sal entre timina, adenina y ácido hialurónico silanizado de fórmula (VIII)



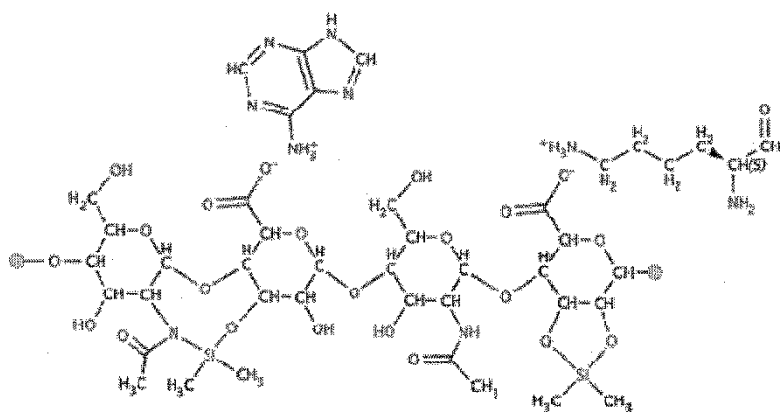
(VIII)

12. Una sal entre lisina y ácido hialurónico silanizado de fórmula (IX)



(IX)

13. Una sal entre lisina, adenina y ácido hialurónico silanizado de fórmula (X)



(X)

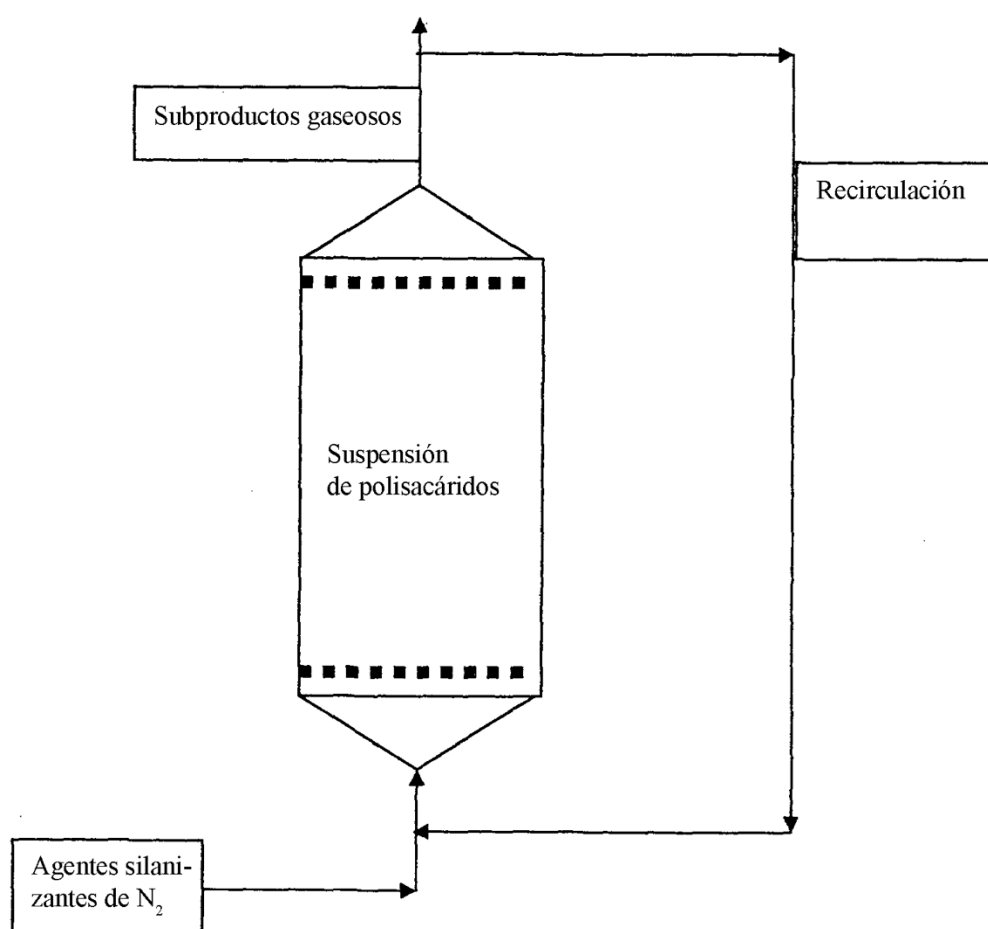


FIG.1

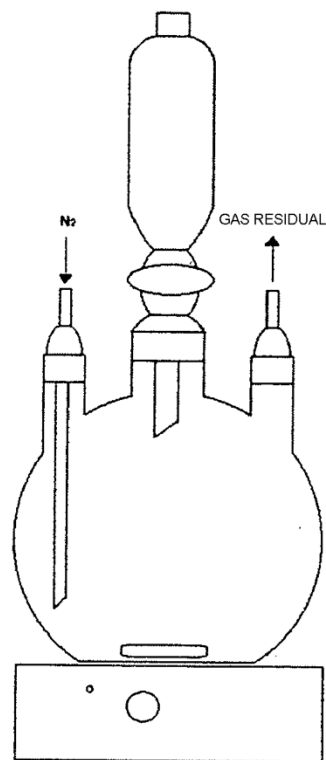


FIG. 2