



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 323 836**

② Número de solicitud: 200701890

⑤ Int. Cl.:

C08B 37/08 (2006.01)

C08L 5/08 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **04.07.2007**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **24.07.2009**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
24.07.2009

⑦ Solicitante/s: **Universidad de Murcia**
Avda. Teniente Flomesta
Edif. de la Convalecencia
30003 Murcia, ES

⑦ Inventor/es: **García Ruiz, Pedro Antonio**

⑦ Agente: **Temño Cenicerros, Ignacio**

⑤ Título: **Derivados de quitosano.**

⑤ Resumen:

Derivados de quitosano.

Nuevos derivados de quitosano total o parcialmente acilados en sus grupos hidroxilo y/o amino con propiedades físico-químicas mejoradas. Es también objeto de la presente invención, el uso de los polímeros obtenidos y composiciones que lo contienen.

ES 2 323 836 A1

DESCRIPCIÓN

Derivados de quitosano.

5 La presente invención se refiere a nuevos compuestos derivados de quitosano que presentan propiedades filmógenas y biocidas.

Estado de la técnica anterior

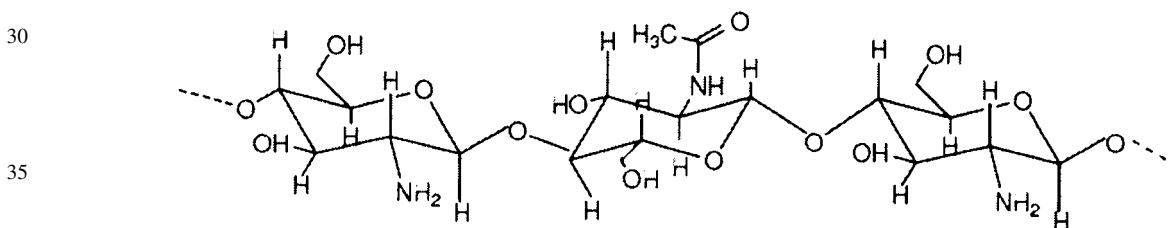
10 Se han descrito con anterioridad diferentes aplicaciones de los esteres y amidas de quitosano, principalmente derivados de ácidos grasos de cadena lineal y en su mayor parte con grados de esterificación altos para utilizarlos o bien en emulsión o en medios lipófilos.

15 También se han utilizado esteres de ácidos dicarboxílicos como medio de entrecruzar cadenas y aumentar el peso molecular de tales polisacáridos.

Por otra parte es usual emplear materiales poliméricos en emulsión (poliacrilatos, polimetacrilatos, poliacetatos de vinilideno etc.) como componentes de formulaciones con propiedades filmógenas.

20 En la patente ES 2189602 se describe un procedimiento para la inmovilización de un ligando en un soporte mediante la cicloadición fotoquímica concertada de soportes y ligandos que poseen grupos carbonilo alfa-beta insaturados conjugados con un anillo aromático lo cual permite generar enlaces covalentes en condiciones muy suaves, lo que facilita la inmovilización de ligandos sobre soportes.

25 El quitosano está constituido por residuos 2-acetoamido-2-deoxi- β -D-glucopiranososa (GlcNAc) y 2-amino-2-deoxi- β -D-glucopiranososa (GlcN) unidos por enlaces glucosídicos $\beta(1\rightarrow4)$, es un producto de desacetilación de la quitina, que es un polisacárido abundante en la naturaleza:



40 La reacción de desacetilación, es decir, la pérdida del grupo acetilo del grupo amida del carbono 2 dando lugar a un grupo amino en esa posición se puede realizar mediante procesos químicos o enzimáticos. Tanto la composición de las cadenas de quitosano, como sus dimensiones, suelen variar dependiendo del material de partida y de la rigurosidad del método de obtención.

45 El grado de acetilación se define como el contenido en residuos N-acetilglucosamina (GlcNAc) presentes en la cadena polimérica. Existen numerosos métodos para determinar el grado de N-acetilación del quitosano basado en diversas técnicas.

50 El quitosano como polisacárido básico, raro en la naturaleza, tiene numerosas aplicaciones por su biocompatibilidad pero presenta dificultades por su baja solubilidad tanto en agua como en disolventes orgánicos. Entre las propiedades de interés conocidas del quitosano se encuentra su capacidad biocida. El quitosano es bioadhesivo, uniéndose a superficies cargadas negativamente como son por ejemplo las membranas mucosas. El quitosano es biocompatible y biodegradable, por lo que junto con sus propiedades filmógenas (bioadhesividad), éste es de gran interés tanto en aplicaciones biomédicas, procesos de filtrado, industria alimentaria, entre otras.

55 La presencia de grupos amino a lo largo de la cadena de quitosano permite la disolución de esta macromolécula en disoluciones de ácidos diluidos, por medio de la protonación de esos grupos. Al adquirir carga positiva la amina, el quitosano aumenta su capacidad hidrofílica y pasa a ser soluble en soluciones ácidas diluidas formando sales ya que el pKa del grupo amino en el quitosano es 6,5. En ácidos inorgánicos se puede solubilizar en clorhídrico, bromhídrico, iodhídrico, nítrico y perclórico diluidos. En cambio es insoluble en ácido sulfúrico diluido. También es insoluble en la gran mayoría disolventes orgánicos. El quitosano, al igual que la quitina, es insoluble en agua.

60

La actividad antimicrobiana del quitosano dependerá de factores como el tipo de quitosano (grado de desacetilación, peso molecular), del pH del medio, de la temperatura, etc.

65 Se han realizado numerosos intentos de modificaciones estructurales para mejorar su solubilidad en agua o en disolventes orgánicos como por ejemplo N-carboximetilación, sulfonación, obtención de sales de amonio cuaternario, esterificación etc. Para obtener quitosanos más solubles en agua con grados de sustitución bajos, es necesario que

los sustituyentes tengan pesos moleculares altos o introduzcan impedimentos estéricos suficientes para disminuir el número de enlaces de hidrógeno entre moléculas de quitosano.

Por lo tanto, existe una necesidad de disponer de nuevos derivados de quitosano con solubilidad mejorada cuyas propiedades físico-químicas no se vean alteradas y/o sean mejoradas.

Explicación de la invención

La solución propuesta por la presente invención consiste en la modificación del quitosano mediante la acilación total o parcial del mismo con ácidos monocarboxílicos o sus derivados haluros de ácido, anhídridos, amidas, ésteres, lactonas y lactamas, que contienen al menos un anillo aromático en su estructura. De este modo los polímeros obtenidos presentan propiedades filmógenas y biocidas, así como una solubilidad mejorada.

Por lo tanto, de acuerdo con un primer aspecto de la invención, ésta proporciona un polímero con propiedades filmógenas y biocidas, que es un derivado de quitosano total o parcialmente acilado con ácidos monocarboxílicos o sus derivados haluros de ácido, anhídridos, amidas, ésteres, lactonas y lactamas, que contienen al menos un anillo aromático en su estructura.

El término "quitosano", tal y como se entiende en la presente invención, se refiere a un derivado de quitina, o poli-N-acetil-D-glucosamina, incluyendo todos los derivados de poliglucosamina y oligómeros de glucosamina de diferente peso molecular, en el que grupos N-acetil han sido eliminados por hidrólisis (N-desacetilado). En el ámbito de la presente invención, el término quitosano incluye tanto quitosano, sus sales (p.e. nitrato, fosfato, sulfato, clorhidrato, glutamato, lactato o acetato), como los derivados de quitosano (incluyendo ésteres, éteres, derivados por unión de grupos acilo, alquilo, hidroxilo, etc). Ejemplos de derivados son O-(C₁-C₁₂)alquil éteres de quitosano, O-(C₁-C₆) acil ésteres de quitosano.

En el contexto de la presente invención, el término "filmógeno" se refiere a la capacidad de formar películas sobre superficies.

El quitosano o derivado de quitosano o su sal tiene preferiblemente un peso molecular de entre 7 a 1200 KDa (Kilo Dalton), más preferiblemente en el rango de 45 y 900 KDa (Kilo Dalton). Quitosanos de diferentes pesos moleculares pueden ser utilizados de acuerdo con la presente invención.

El término "acilación" se refiere a tanto a la N-acilación del grupo amino del quitosano, como a la O-acilación del grupo hidroxilo del quitosano, con ácidos monocarboxílicos o sus derivados haluros de ácido, anhídridos, amidas, ésteres, lactonas y lactamas, que contienen al menos un anillo aromático en su estructura.

De acuerdo con la presente invención, la solubilidad, la viscosidad y el carácter filmógeno del quitosano puede ser aumentado y/o regulado debido a las interacciones supramoleculares entre los anillos aromáticos de los grupos acilo que vienen a modificar dicho quitosano. De forma que dosificando los grados de sustitución DS (grados de acilación en este caso) se consiguen nuevos materiales cuya solubilidad, viscosidad y carácter filmógeno puede ser modulada en función del medio en que se pretenda utilizar, los cuales generan películas sobre superficies o pueden ser utilizados como medio de dosificación de aditivos. La modulación del grado de acilación influirá sobre las propiedades físicas del quitosano, solubilidad y viscosidad, pero también sobre su comportamiento bioquímico.

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, el grado de acilación del quitosano está preferentemente comprendido entre el 3% y el 99% de los grupos hidroxilo y/o entre el 1% y el 60% de los grupos amino del quitosano. De manera más preferida, el quitosano presenta un grado de acilación comprendido entre 70 y el 90% de los grupos hidroxilo y/o un 3% y 15% de los grupos amino.

De acuerdo con una realización de la presente invención, el ácido monocarboxílico o sus derivados haluros de ácido, anhídridos, amidas, ésteres, lactonas y lactamas es de fórmula (I)



donde:

Ar es un residuo de un grupo aromático o heteroaromático de 1 a 3 anillos, conteniendo de 5 a 12 átomos de carbono, opcionalmente interrumpidos por uno o varios heteroátomos seleccionados entre N, O ó S; donde cada anillo puede estar opcionalmente substituido con uno o más grupos seleccionados entre OH, F, Cl, Br, NO₂, (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxilo, NH₂, CF₃, CN, COR¹ y CO₂R¹.

n es un entero entre 0 y 1

X = (C₁-C₄)alquilo lineal o ramificado substituido o no, (C₂-C₄)alqueno lineal o ramificado substituido o no, en caso de estar substituido los substituyentes se seleccionan entre el grupo formado por H, OH, F, Cl, Br, NO₂, (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxilo, NH₂, CF₃, CN, -COR¹ y -CO₂R¹;

ES 2 323 836 A1

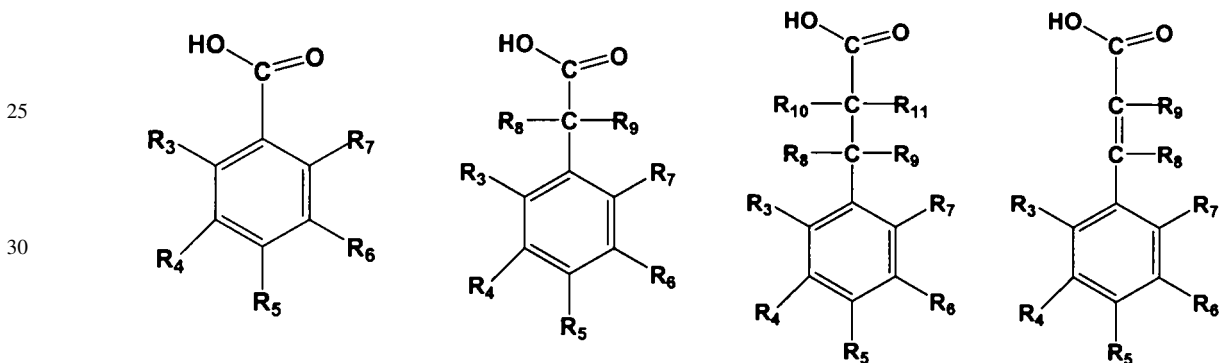
Y se selecciona entre -COOH, -COCl, -COBr, -CO-O-COR¹, -CONR¹R², -COOR¹, y lactona;

donde:

5 R¹ y R² son iguales o diferentes entre si, y se seleccionan entre H, OH, (C₁-C₆)alquilo, (C₂-C₆)alquenilo, F, Cl, Br.

10 Preferentemente el grupo Ar es un residuo de un grupo aromático o heteroaromático que se selecciona entre benceno, naftaleno, dihidronaftaleno, tetrahidronaftaleno, piridina, quinolina, isoquinolina, imidazol, bencimidazol, azabencimidazol, benzotriazol, furano, benzofurano, tiazol, benzotiazol, oxazol, benzoxazol, pirrol, indol, tetrahydro-
 15 quilonina, tetrahydroisoquinolina, pirazol, tiofeno, isoxazol, isotiazol, triazol, tetrazol, oxadiazol, tiadiazol, imidazolina y benzopirano; donde el grupo Ar puede estar opcionalmente sustituido por uno o más grupos OH, F, Cl, Br, NO₂, (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxilo, NH₂, CF₃, CN, COR¹ y CO₂R¹. Particularmente preferidos son aquellos donde el grupo Ar es un residuo de un grupo seleccionado entre benceno, piridina, pirrol, imidazol, furano, tiazol, benzofurano y naftaleno. Aún más preferidos cuando Ar es un residuo de un grupo seleccionado entre benceno, piridina y benzofurano.

20 Preferentemente, el quitosano está parcialmente acilado por ácidos monocarboxílicos que se seleccionan entre el grupo formado por:



donde R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁ son independientemente seleccionados de entre H, OH, (C₁-C₆)alquilo, (C₂-C₆)alquenilo, F, Cl, Br, (C₁-C₆)alcoxilo, NH₂, CF₃, CN, COR¹ y CO₂R¹.

40 De acuerdo con una realización preferida, el ácido se selecciona entre derivados del ácido benzoico, derivados del ácido cinámico y derivados del ácido cafeico.

45 De acuerdo con otro aspecto de la invención, ésta proporciona el uso de al menos un polímero definido anteriormente como agente filmógeno y biocida.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una composición filmógena caracterizada porque comprende al menos un polímero de la presente invención.

50 Según otro aspecto de la invención, se proporciona el uso de los polímeros de acuerdo con la invención en la preparación de una composición cosmética, farmacéutica, de barnices y pinturas.

Es también objeto de la presente invención, un procedimiento de obtención de una película sobre un soporte, caracterizado porque se aplica sobre dicho soporte una composición filmógena de la invención.

55 Los polímeros de acuerdo con la invención pueden ser utilizados en la inmovilización de un ligando por adsorción física y/o atrapamiento covalente, mediante la irradiación con luz visible o ultravioleta de una mezcla de al menos un polímero de la invención, con un ligando que contiene al menos un grupo que pueda generar sales de amonio.

60 Preferentemente dicho ligando se selecciona entre un sustrato, un reactivo, un catalizador, un aditivo, un fármaco, una enzima y un microorganismo. Es particularmente preferido, cuando el ligando inmovilizado tiene carácter biocida.

Dadas las propiedades de fotoentrecruzamiento de los polímeros de la invención, éstos se pueden emplear como productos de fotoentrecruzamiento entre sí o con esteres o amidas fotoentrecruzables.

65 Se puede, por lo tanto, obtener así una composición susceptible de formar películas, y que puede utilizarse tal cual, como composición cosmética o farmacéutica, que puede comprender entonces un medio cosmético o farmacéuticamente aceptable, o incorporada en una composición de un barniz o pintura,.

Dicha composición cosmética o farmacéutica puede presentarse en las formas apropiadas para una aplicación tópica, principalmente en forma de geles acuosos o hidroalcohólicos; en forma de emulsiones de agua-en-aceite, de aceite-en-agua o múltiple, de consistencia líquida más o menos espesa, tales como leche o crema; pulverizaciones o espuma aerosol; de bastoncillos o barras; soluciones o dispersiones o soluciones líquidas.

5 En particular, estas composiciones pueden contener adyuvantes habitualmente utilizados en los campos cosmético o farmacéutico, tales como aceites, ceras u otros cuerpos grasos usuales; tensioactivos; agentes hidratantes; emolientes; filtros solares; activos hidrófilos o lipófilos como ceramidas; agentes anti-radicales libres; polímeros; proteínas; bactericidas; secuestrantes; antipeliculares; antioxidantes; conservantes; agentes alcalinizantes o acidulantes; perfumes; cargas; materias colorantes; activos cosméticos o farmacéuticos. Las cantidades de estos diferentes adyuvantes son las clásicamente utilizadas en los campos considerados y se pueden determinar fácilmente por el experto en la materia.

15 Las composiciones según la invención son filmógenas y pueden utilizarse, por lo tanto, para formar una película sobre un soporte, principalmente elegida entre la piel, las mucosas, las semi-mucosas, las uñas y los cabellos del ser humano.

20 Las composiciones según la invención son, por ejemplo, lociones, leches o cremas para el tratamiento de la piel o de los cabellos, cremas, lociones o leches desmaquillantes, bases de maquillaje de fondo, lociones o cremas antisolares o para después del sol, lociones, leches o cremas para el bronceado artificial, cremas o espumas para el afeitado, lociones para después del afeitado, composiciones de higiene corporal tales como bastoncillos o cremas desodorantes, champús, productos capilares para el mantenimiento del peinado o el moldeo de los cabellos tales como geles para el peinado, productos de coloración de los cabellos, rojos de labios, máscaras o eye-liners eventualmente tratantes, esmaltes de uñas o de tratamiento de las uñas.

25 Son numerosas las ventajas que puede aportar la inmovilización de productos (por ejemplo, sustratos, reactivos, catalizadores, aditivos, fármacos, enzimas o bacterias), lo cual hace que los polímeros de la invención puedan ser utilizados con diferentes fines: insolubilización, catálisis heterogénea, liberación controlada de productos o fármacos, reactivos insolubilizados, reacciones soportadas sobre polímeros o superficies con propiedades específicas, etc.

30 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

Exposición detallada de modos de realización

40 Para mostrar la obtención de los productos de los diferentes ejemplos de realización de la invención se describen a continuación los procedimientos generales.

Procedimiento 1

Preparación de cinamoil amidas de quitosano

45 En un matraz de 2 bocas de 250 mL se vierten 50 mL de agua destilada, a los que se añaden 100 mL de Metanol y 8 mL de Ácido Acético Glacial.

50 La mezcla se somete a agitación y se disuelve en ella 0.5 g de quitosano. Cuando se llega a la homogenización de la disolución se añaden 0.35 g de Cloruro de cinamoilo, se cubre el matraz para protegerlo de la luz, se calienta el recipiente hasta los 50°C en un baño de glicerina y se deja reaccionar a reflujo durante 7 horas.

55 Transcurrido el tiempo de reacción, se retira el matraz de la reacción y se deposita en agua y hielo durante 10 minutos para interrumpir la reacción. A continuación, el contenido del matraz se lleva a sequedad, y el producto sólido recuperado se lava en 50 mL de etanol para eliminar los restos de Cloruro de cinamoilo y se filtra a vacío en un embudo Büchner para recuperar el quitosano cinamoilado seco.

60 Una vez seco, se divide finamente en un mortero de ágata y se caracterizan mediante I.R. y ¹H y ¹³C RMN. Se determinan los DSC (Calorimetría diferencial de barrido) y los grados de esterificación se determinan mediante ¹³C RMN de sólidos.

Procedimiento 2

Preparación de cinamatos de quitosano altamente acilados

65 En un matraz de 2 bocas de 250 mL se vierten 50 mL de agua destilada, a los que se añaden 100 mL de Metanol y 5 mL de Ácido Acético Glacial.

ES 2 323 836 A1

A la mezcla se añade 1 g de quitosano, y se somete a agitación y calentamiento suave hasta que se produce la disolución del sólido. En ese momento se añaden 3.42 g del cloruro de cinamoilo, se cubre el matraz, se calienta hasta los 50°C en un baño de glicerina y se deja reaccionar a reflujo durante 6 horas.

5 Transcurrido el tiempo de reacción, se retira el matraz de la reacción y se deposita en agua y hielo durante 10 minutos para interrumpir la reacción. A continuación, el contenido del matraz se lleva a sequedad, y el producto sólido recuperado se lava en 100 mL de etanol para eliminar los restos de Cloruro de cinamoilo y seguidamente se filtra a vacío en un embudo Buchner para recuperar el quitosano cinamoilado seco.

10 Una vez seco, se divide finamente en un mortero de ágata y se caracterizan mediante I.R. y ¹H y ¹³C RMN. Se determinan los DSC (Calorimetría diferencial de barrido) y los grados de esterificación se determinan mediante ¹³C RMN de sólidos.

Procedimiento 3

15 *Preparación de cinamoil esteres de quitosano*

A) Protección del grupo amino

20 En un matraz de 2 bocas de 250 mL se introduce 1 gramo de quitosano y se añaden 50 mL de metanol, y 2 mL de benzaldehído. La mezcla se somete a agitación y se deja reaccionar durante 16 horas a temperatura ambiente.

25 Transcurrido ese tiempo, se filtra a vacío y se lava el sólido obtenido con éter para eliminar los restos de benzaldehído y se vuelve a filtrar nuevamente. El producto seco se divide finamente con el mortero de ágata y se caracterizan mediante I.R. y ¹H y ¹³C RMN. Se determinan los DSC (Calorimetría diferencial de barrido) y los grados de esterificación se determinan mediante ¹³C RMN de sólidos.

B) Cinamoilación

30 En un matraz de 2 bocas de 250 mL se deposita 1 gramo de bencil imina de quitosano y se añaden 43 ml de piridina. Bajo agitación, la mezcla se lleva a 68-70°C en un baño de glicerina y a continuación se añaden por goteo los gramos de cloruro de cinamoilo correspondientes al grado de sustitución deseado disueltos en 20 mL de piridina). Se deja reaccionar a 60°C durante 5 horas, tras las cuales se vierte sobre agua - hielo.

35 El producto precipitado se filtra a vacío en un embudo Buchner y se agita durante 20 minutos en 50 mL de agua acidulada tras lo que se vuelve a filtrar y se lava el precipitado con 50 mL de éter dietílico.

40 Una vez seco, se divide finamente en un mortero de ágata y se caracteriza mediante I.R. y ¹H y ¹³C RMN. Se determinan los DSC (Calorimetría diferencial de barrido) y los grados de esterificación se determinan mediante ¹³C RMN de sólidos.

Características de los quitosanos ensayados en los ejemplos

Tipo 1

45 50494 Fluka Quitosano de caparazón de cangrejo; Baja viscosidad; viscosidad 43 mPa.s, 1% en ácido acético (20°C)

Tipo 2

50 448869 Aldrich Quitosano de caparazón de cangrejo; Bajo peso molecular; viscosidad 20-200 cP, 1% in 1% ácido acético, Brookfield; 90% deacetilado

Tipo 3

55 C-3646 Sigma Quitosano de caparazón de cangrejo; viscosidad 100 mPas, 1% in 1% ácido acético, Brookfield; 91% deacetilado

60 Ejemplo 1

Amidas del ácido cinámico y quitosano

65 Siguiendo el procedimiento general 1 de preparación descrito anteriormente, y utilizando los quitosanos indicados, se obtuvieron los siguientes productos.

a) Quitosano tipo 3 Cinamoilado 8.74% sobre grupos amino

ES 2 323 836 A1

- b) Quitosano tipo 3 Cinamoilado 9.46% sobre grupos amino
- c) Quitosano tipo 3 Cinamoilado 13.96% sobre grupos amino
- 5 d) Quitosano tipo 2 Cinamoilado 17.05% sobre grupos amino
- e) Quitosano tipo 2 Cinamoilado 8.76% sobre grupos amino
- 10 f) Quitosano tipo 2 Cinamoilado 14,8% sobre grupos amino
- g) Quitosano tipo 1 Cinamoilado 12,54% sobre grupos amino
- h) Quitosano tipo 1 Cinamoilado 16,21% sobre grupos amino
- 15 i) Quitosano tipo 1 Cinamoilado 13,96% sobre grupos amino

Los productos anteriores son de gran utilidad en aplicaciones de recubrimientos alimentarios o en barnices de secado UV en emulsión acuosa. También son de aplicación a la modificación de superficies mediante fotoentrecruzamiento con grupos fotoactivos anclados en tales superficies.

Las muestras obtenidas son estables a temperaturas inferiores a 300°C (DSC) y las películas formadas a partir de disoluciones acuosas ácidas de ellas en algunos casos fueron polimerizadas mediante irradiación ultravioleta durante 10 min, utilizando una lámpara de vapor de mercurio Osram HOL-125W que proporciona una potencia de 1.6 mW cm⁻² determinada mediante un Nover-Laser power/energy monitor (OPHIR Optronics Ltd. El seguimiento del grado de entrecruzamiento se realizó monitorizando la banda de UV de 280 nm debida al doble enlace conjugado con el grupo fenilo, comprobando el fotoentrecruzamiento entre cadenas.

Ejemplo 2

Esteres cinámicos de Quitosano

Siguiendo el procedimiento general 2 de preparación descrito anteriormente, y utilizando los quitosanos indicados, se obtuvieron los siguientes productos.

- a) Quitosano tipo 2 Cinamoilado 21,1% sobre grupos hidroxilo
- b) Quitosano tipo 2 Cinamoilado 29,0% sobre grupos hidroxilo

Aplicación: Recubrimientos fotoentrecruzables mediante UV

Especialmente útiles cuando no se desea inmovilizar otras moléculas en el polímero, presentan buenas propiedades filmógenas a diferentes diluciones para su deposición y sus películas mostraron en ensayos de un día a 25°C que inhiben diferentes bacterias Gram positivas y gram negativas.

Ejemplo 3

Esteres benzoicos de quitosano

Siguiendo el procedimiento general 2 de preparación descrito anteriormente, y utilizando los quitosanos indicados, se obtuvieron los siguientes productos.

- a) Quitosano tipo 2 Cinamoilado 11,3% sobre grupos hidroxilo
- b) Quitosano tipo 2 Cinamoilado 23,1% sobre grupos hidroxilo

Aplicación: Recubrimientos solubles en Cl₃CH así como análogas aplicaciones que en ejemplos 1.

Ejemplo 4

Actividades biocidas de las películas de los ejemplos

Mediante la utilización de un test de contacto directo “película-microorganismo” en medio sólido realizado en placa de cultivo, se ensayaron películas fotoentrecruzadas o no, frente a bacterias (*Micrococcus luteus* (Gram+), *Escherichia coli* (Gram -), *Serratia marcescens* (Gram -)), hongos filamentosos (*Aspergillus carbonarius*) y levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*).

ES 2 323 836 A1

Se observó en todos los casos inhibición por contacto de la película con el microorganismo. No se observó en ningún caso crecimiento alguno en la zona ocupada por la película. Sin embargo únicamente en los casos de menores grados de acilación y para quitosanos de bajo peso molecular, alrededor de la película se observó, además, una estrecha banda de inhibición del crecimiento del microorganismo, el cual, como consecuencia de su crecimiento se acerca a la película pero no llega a contactarla lateralmente. Para el resto de los casos el crecimiento microbiano llegó a contactar lateralmente los bordes de la película aunque no la invadió.

En alguna ocasión se observó un mayor crecimiento en la zona próxima a los bordes de la película probablemente debido a que la inhibición del crecimiento microbiano en la zona de contacto y por debajo de la película, determina que los nutrientes de esta zona no sean usados por las células microbianas. La difusión de los nutrientes no usados hacia la zona periférica de la película, en donde la misma contacta con los microorganismos que la circundan, determina la potenciación del crecimiento microbiano en esta zona, lo que produce la aparición de una banda de mayor densidad microbiana. En algún caso la coloración del microorganismo resultó asimismo potenciada.

Por último señalar que tales películas no inhibieron a *Pseudomonas aeruginosa* poniendo de manifiesto que la acción inhibitoria de tales películas es debida a grupos amonio.

Ensayos microbiológicos realizados a los quitosanos modificados

Especies microbianas usadas en los ensayos:

Bacterias: *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Hongos filamentosos: *Aspergillus carbonarius*.

Levaduras: *Saccharomyces cerevisiae*.

El test empleado consistió en el contacto directo de la película sobre crecimiento microbiano en medio sólido.

Tipos de efectos observados en el test mencionado:

“O”= No hay efecto inhibitorio de la película sobre los microorganismos bajo ensayo. Si el microorganismo posee capacidad invasiva sobre superficies, las películas terminan por resultar cubiertas (“invadidas”) por el crecimiento microbiano. En algunos casos el microorganismo desarrolla crecimientos por debajo de la película, entre el medio de cultivo y la misma.

“I”= Inhibición simple por contacto de la película con el microorganismo. No se observa crecimiento alguno en la zona ocupada por la película. El crecimiento microbiano llega a contactar lateralmente los bordes de la película aunque no la invade.

“II”= Como “I”, pero alrededor de la película se observa, además, una estrecha banda de inhibición del crecimiento del microorganismo, el cual, como consecuencia de su crecimiento se acerca a la película pero no llega a contactarla lateralmente.

Los resultados observados se muestran en la siguiente tabla:

TABLA

Efecto inhibitorio o carencia del mismo, observados mediante el test de contacto directo entre los distintos tipos de película y los microorganismos indicados sobre medio nutritivo sólido

Especie microbiana (tipo)	QLV20	QLV40	QD20	QD40	QD60
Muestra:	4	5	6	7	8
<i>Micrococcus luteus</i> (Gram+)	II	II	II	I	I
<i>Escherichia coli</i> (Gram -)	I	I	I	I	I

ES 2 323 836 A1

5	<i>Serratia marcescens</i> (Gram -)	I	I	I	I	I
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram -)	0	0	0	0	0
10	<i>Aspergillus carbonarius</i> (Hongo filamentoso = moho)	0	0	I	I	I
15	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (levadura)	II	II	I	I	I

QLV 20 = quitosano tipo 1 cinamoilado al 20%

QLV 40 = quitosano tipo 1 cinamoilado al 40%

QD 20 = Quitosano tipo 3 cinamoilado al 20%

QD 40 = Quitosano tipo 3 cinamoilado al 40%

QD 60 = Quitosano tipo 3 cinamoilado al 60%

REIVINDICACIONES

5 1 Polímero **caracterizado** porque es un derivado de quitosano o una sal del mismo, total o parcialmente acilado en sus grupos hidroxilo y/o sus grupos amino con uno o varios ácidos monocarboxílicos o sus derivados haluros de ácido, anhídridos, amidas, esteres, lactonas y lactamas que contienen al menos un anillo aromático en su estructura.

2. El polímero según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el quitosano tiene un peso molecular comprendido entre 7 a 1200 KDa (Kilo dalton).

10 3. El polímero según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1-2, **caracterizado** porque el quitosano tiene un peso molecular comprendido entre 45 y 900 KDa (Kilo Dalton).

15 4. El polímero según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 3, **caracterizado** porque el grado de acilación del quitosano está comprendido entre el 3% y el 99% de los grupos hidroxilo y/o entre el 1% y el 60% de los grupos amino del quitosano.

20 5. El polímero según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 4, **caracterizado** porque el quitosano presenta un grado de acilación comprendido entre 70 y 90% de los grupos hidroxilo y/o un 3% y 15% de los grupos amino.

6. El polímero según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 5, **caracterizado** porque el ácido monocarboxílico o sus derivados haluros de ácido, anhídridos, amidas, esteres, lactonas y lactamas es de fórmula (I)



donde:

30 Ar es un residuo de un grupo aromático o heteroaromático de 1 a 3 anillos, conteniendo de 5 a 12 átomos de carbono, opcionalmente interrumpidos por uno o varios heteroátomos seleccionados entre N, O ó S, donde cada anillo puede estar opcionalmente substituido con uno o más grupos seleccionados entre OH, F, Cl, Br, NO₂, (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxilo, NH₂, CF₃, CN, COR¹ y CO₂R¹;

35 n es un entero entre 0 y 1

X = (C₁-C₄)alquilo lineal o ramificado substituido o no, (C₂-C₄) alqueno, lineal o ramificado substituido o no, en caso de estar substituido los substituyentes se seleccionan entre el grupo formado por H, OH, F, Cl, Br, NO₂, (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxilo, NH₂, CF₃, CN, -COR¹ y -CO₂R¹;

40 Y se selecciona entre -COOH, -COCl, -COBr, -CO-O-COR¹, -CO-NR¹R², -COOR¹, y lactona;

donde:

45 R¹ y R² son iguales o diferentes entre sí, y se seleccionan entre H, OH, (C₁-C₆)alquilo, (C₂-C₆)alqueno, F, Cl, Br;

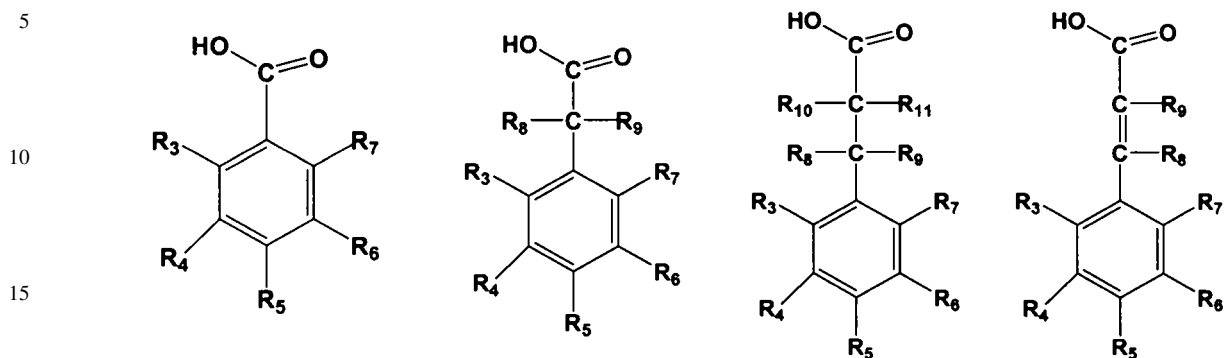
50 7. El polímero según la reivindicación 6, **caracterizado** porque el grupo Ar se selecciona entre benceno, naftaleno, dihidronaftaleno, tetrahidronaftaleno, piridina, quinolina, isoquinolina, imidazol, bencimidazol, azabencimidazol, benzotriazol, furano, benzofurano, tiazol, benzotiazol, oxazol, benzoxazol, pirrol, indol, imidazol, tetrahidroquilonina, tetrahidroisoquinolina, pirazol, tiofeno, isoxazol, isotiazol, triazol, tetrazol, oxadiazol, tiadiazol, imidazolina y benzopirano, donde el grupo Ar puede estar opcionalmente substituido por uno o más grupos OH, F, Cl, Br, NO₂, (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxilo, NH₂, CF₃, CN, COR¹ y CO₂R¹.

55 8. El polímero según la reivindicación 7, **caracterizado** porque el grupo Ar se selecciona entre benceno, piridina, pirrol, imidazol, furano, tiazol, benzofurano y naftaleno, opcionalmente substituidos por OH, F, Cl, Br, NO₂, (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxilo, NH₂, CF₃, CN, COR¹ y CO₂R¹.

60

65

9. El polímero según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 8, **caracterizado** porque el quitosano está parcialmente acilado por ácidos monocarboxílicos que se seleccionan entre el grupo formado por:



20 donde R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁ son independientemente seleccionados de entre H, OH, (C₁-C₆)alquilo, (C₂-C₆)alquenoilo, F, Cl, Br, (C₁-C₆)alcoxilo, NH₂, CF₃, CN, COR¹ y CO₂R¹.

25 10. El polímero según la reivindicación 9, **caracterizado** porque el ácido se selecciona entre derivados del ácido benzóico, derivados del ácido cinámico y derivados del ácido caféico.

30 11. Uso de al menos un polímero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 10, como agente filmógeno.

35 12. Una composición filmógena **caracterizada** porque comprende al menos un polímero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 10.

40 13. Uso de los polímeros de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 en la preparación de una composición cosmética, farmacéutica, barnices.

45 14. Un procedimiento de obtención de una película sobre un soporte, **caracterizado** porque se aplica sobre dicho soporte una composición filmógena de acuerdo con la reivindicación 12.

50 15. Uso del polímero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la inmovilización de un ligando por adsorción física y/o atrapamiento covalente, que comprende irradiar con luz visible o ultravioleta una mezcla de al menos un polímero con un ligando.

55 16. Uso según la reivindicación 15, **caracterizado** porque dicho ligando se selecciona entre un sustrato, un reactivo, un catalizador, un aditivo, un fármaco, una enzima y un microorganismo.

60 17. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 15-16, donde el ligando inmovilizado tiene carácter biocida.

65 18. Uso del polímero de acuerdo con la reivindicación 1 como producto para fotoentrecruzamiento entre sí o con esteres o amidas fotoentrecruzables.

19. Uso del polímero de acuerdo con la reivindicación 1 como producto para anclaje mediante fotoentrecruzamiento de ligandos funcionalizados con grupos fotoentrecruzables.



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 323 836

② Nº de solicitud: 200701890

③ Fecha de presentación de la solicitud: **04.07.2007**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ **Int. Cl.:** Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	M. E. I. BADAWY et al., "Synthesis and fungicidal activity of new N,O-acyl chitosan derivatives", Biomacromolecules, 2004, vol. 5, nº 2, páginas 589-595, ver Tabla 1, compuestos 11-18.	1-10
X	DE 3912122 A1 (WELLA AG) 25.10.1990, compuestos I-III.	1-10,13
X	E. I. RABEA et al., "Fungicidal activity of new N-alkyl and N-aryl chitosan derivatives", Commun. Agric. Appl. Biol. Sci., 2004, vol. 69, nº 4, páginas 789-792.	1,6-10, 15-17
X	D-W. LEE et al., "Physicochemical properties and blood compatibility of acylated chitosan nanoparticles", Carbohydrate Polymers, 2004, vol. 58, páginas 371-377, ver Fig. 1.	1,6-10,15, 16
X	G. K. MOORE et al., "Reactions of chitosan: 2. Preparation and reactivity of N-acyl derivatives of chitosan", Int. J. Biol. Macromol., 1981, vol. 3, páginas 292-296.	1,6-10
X	V. TANGPASUTHADOL, et al., "Surface modification of chitosan films. Effects of hydrophobicity on protein adsorption", Carbohydrate Research, 2003, vol. 338, páginas 937-942, ver Esquema 1.	1-12,15,16
A	US 4996307 A (H. ITOI et al.) 26.02.1991, todo el documento.	1-19
A	WO 2007042281 A1 (T. FREIER) 19.04.2007, páginas 8-9; página 11, líneas 3-6; reivindicaciones.	1-19

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

24.06.2009

Examinador

E. Dávila Muro

Página

1/2

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

C08B 37/08 (2006.01)

C08L 5/08 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)