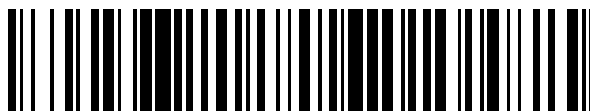


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 811 269**

51 Int. Cl.:

C08L 5/04 (2006.01)
A61L 31/00 (2006.01)
C07C 229/08 (2006.01)
C07C 237/06 (2006.01)
C08B 11/12 (2006.01)
C08B 37/04 (2006.01)
C08B 37/08 (2006.01)
C08K 5/17 (2006.01)
C08L 1/26 (2006.01)
C08L 5/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.01.2015 PCT/JP2015/052725**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **06.08.2015 WO15115609**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2015 E 15743701 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.07.2020 EP 3101064**

54 Título: **Agente de reticulación de diamina, cuerpo reticulado de polisacárido ácido y material médico**

30 Prioridad:

31.01.2014 JP 2014018018

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

11.03.2021

73 Titular/es:

SEIKAGAKU CORPORATION (100.0%)
6-1 Marunouchi 1-chome, Chiyoda-ku
Tokyo 100-0005, JP

72 Inventor/es:

FUNAYAMA, SHO;
YASUDA, YOSUKE;
TAKEZAWA, AKIHIRO y
TAKAHASHI, KATSUYA

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 811 269 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

Agente de reticulación de diamina, cuerpo reticulado de polisacárido ácido y material médico

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a sulfato de condroitina reticulado, y a usos médicos del producto reticulado.

10 **Antecedentes de la técnica**

Los polisacáridos reticulados obtenidos por enlace covalente de moléculas de polisacáridos son materiales médicos prometedores debido a la alta biocompatibilidad de los polisacáridos *per se* y han sido sujetos de interés en diversas investigaciones.

Como métodos de reticulación pueden citarse, por ejemplo, las siguientes cuatro categorías.

(1) Reticulación con agentes de reticulación de aldehídos tales como formaldehído o glutaraldehído.

(2) Autorreticulación sin ningún grupo de reticulación que se produce entre grupos carboxilo y grupos hidroxilo ambos presentes en los polisacáridos.

(3) Reticulación con agentes de reticulación homobifuncionales tales como diepóxidos, divinilsulfonas, diaminas y dihidrazidas, o agentes de reticulación heterobifuncionales tales como epihalohidrinas.

(4) Reticulación mediante la reacción de polisacáridos que tienen grupos funcionales tales como grupos fotorreactivos, grupos funcionales polimerizables, grupos amino, grupos tiol y halógenos, con polisacáridos que tienen grupos reactivos que son complementarios a los grupos funcionales anteriores.

Esos métodos en la categoría (1) tienen un problema de seguridad. Por ejemplo, la publicación de patente japonesa Kohyo n.º 2013-503688 describe que la formalina o el glutaraldehído usados como agente de reticulación experimentan la reacción de reticulación también con proteínas en un organismo vivo para dar lugar a toxicidad tisular.

Con respecto a la autorreticulación de la categoría (2), por ejemplo, se toma ácido hialurónico (HA), por ejemplo, ácido hialurónico unido a un éster autorreticulado en el que una parte o todos los grupos carboxilo en una molécula se esterifican con grupos alcohol de la misma molécula de polisacárido o de diferentes moléculas de polisacárido se divulga en la patente EP n.º 341745. Además, el documento WO 99/10385 divulga ácido hialurónico unido a un éster autorreticulado preparado congelando y posteriormente descongelando al menos una vez una disolución acuosa de ácido hialurónico en condiciones ácidas. El documento WO 01/57093 divulga ácido hialurónico unido a un éster autorreticulado preparado mezclando ácido hialurónico con una disolución ácida para que la concentración no sea de menos del 5% y manteniendo la mezcla como tal sin congelar la mezcla. En los métodos en los que una disolución acuosa de ácido hialurónico se congela en condiciones ácidas, la semivida de la disolución aumenta a medida que el tiempo de congelación es más largo, pero la congelación excesivamente prolongada provoca que disminuya el peso molecular del ácido hialurónico, lo que da como resultado un acortamiento de la semivida de la disolución. Además, el hecho de que la autorreticulación se produzca sin ningún agente de reticulación hace que sea imposible controlar el tiempo de desintegración seleccionando una estructura química apropiada del agente de reticulación.

Con respecto a la categoría (3), la publicación de patente japonesa Kohyo n.º 2011-505362 divulga productos reticulados de ácido hialurónico o sulfato de condroitina (CS) obtenidos con agentes de reticulación de diepóxido tales como diglicidil éter de 1,4-butanodiol (BDDE).

Con respecto a la categoría (4), Adv. Mater., 2011, 23 (12), H41-56 (Jason A. Burdick *et al.*) divulga la introducción de adipato de dihidrazida, tiramida, metacrilato, metacrilato de glicidilo, tiopropionilhidrazida, bromoacetato y similares con respecto a grupos carboxilo y grupos hidroxilo de ácido hialurónico.

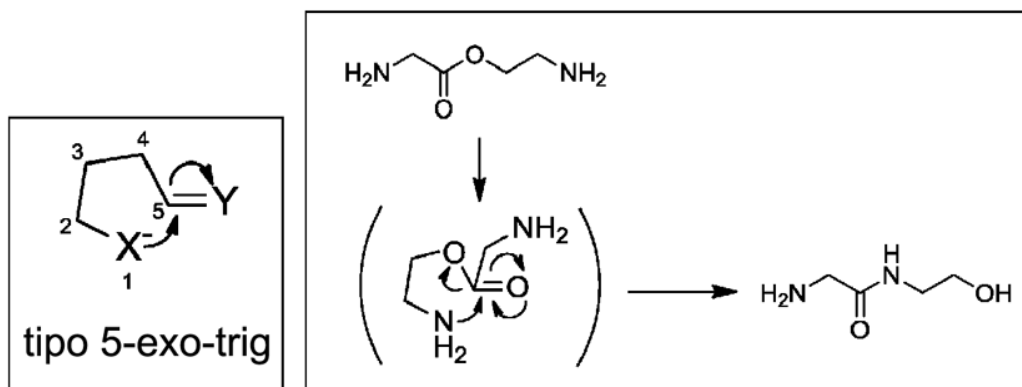
Como ejemplo que apunta a la modificación eficiente de las propiedades físicas de los polisacáridos, puede citarse un método para reticular grupos carboxilo de polisacáridos por diaminas (correspondiente a la categoría (3)). Por ejemplo, la solicitud de publicación de patente japonesa Kokai n.º 2000-70356 divulga productos reticulados obtenidos haciendo reaccionar grupos carboxilo de polisacáridos tales como ácido algínico (Alg) y ácido hialurónico con alquildiaminas tales como etilendiamina. Además, la publicación de patente japonesa Kohyo n.º 2002-529549 divulga carboximetilcelulosa (CMC) reticulada con 1,3-diaminopropano. Un informe describe que los derivados de sulfato de condroitina se han producido con el uso de diaminas como agentes de reticulación (Biomaterials, 1995, 16, 473-478 (Amnon Sintov *et al.*)). Sin embargo, diversos análisis de productos preparados reproduciendo el método de producción informan no confirmaron la reticulación del sulfato de condroitina (J. Biomater. appl., 1998, 12, 201-221 (C. Bourie *et al.*)) y concluyó que la producción de sulfato de condroitina reticulada era irreal.

Algunos informes describen que los ésteres se seleccionan como sitios biodegradables que permiten que se

desintegren los polisacáridos ácidos reticulados. Por ejemplo, Adv. Mater., 2011, 23 (12), H41-56 (Jason A. Burdick *et al.*) informa que el ácido hialurónico se reticula mediante la introducción de tiramida o metacrilato de glicidilo seguido por la reacción por radicales o reacción de polimerización. Además, la solicitud de publicación de patente japonesa Kokai n.º H6-73102 presenta un informe en el que un compuesto fotosensible se une con éster a grupos carboxilo en ácido hialurónico o sulfato de condroitina y el polisacárido se fotorreticula. Estos informes se asocian con productos reticulados obtenidos por reacción en dos etapas, incluyendo la introducción de grupos reactivos y la reacción de reticulación.

El 2-aminoacetato de 2-aminoetilo (GlyC2N), ilustrado en el cuadro de la derecha a continuación, es un ejemplo de las estructuras más simples de los agentes de reticulación de diamina que tienen un sitio biodegradable. Según las reglas de Baldwin (reglas empíricas que describen la preferencia relativa de las reacciones nucleófilas intramoleculares) (J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1976, 734-736. (Jack E. Baldwin), J. Org. Chem., 1977, 42 (24), 3846-3852. (Jack E. Baldwin *et al.*)), el grupo carbonilo (un grupo electrófilo) en el enlace éster y el grupo amino (un grupo nucleófilo) pueden formar un anillo de 5 miembros (tipo 5-exo-trig). Por tanto, se entiende que la reacción de sustitución nucleófila intramolecular es probable que se produzca en estructuras análogas a la diamina anterior (véase a continuación). En general, se sabe que las estructuras exo-trig relativamente simples forman un anillo de 3 a 7 miembros en el estado de transición.

[Fórm. quím. 1]



El cuadro de la izquierda anterior ilustra un ejemplo de las reglas de Baldwin. El cuadro de la derecha ilustra la reordenación acilo O → N de GlyC2N.

Como ejemplo específico de la preferencia relativa de las reacciones intramoleculares, la estructura similar -α-aminoácido-(enlace éster)-serina o treonina- se convierte fácilmente en -α-aminoácido-(enlace amida)-serina o treonina- por reacción nucleófila intramolecular del grupo amino libre en serina al carbono carbonílico en el enlace éster (reordenación acilo O → N), en agua y en condiciones fisiológicas (Org. Lett., 2008, 10 (22), 5243-5246 (Natalia N. *et al.*), J. Org. Chem 2006, 71, 6171-6177 (Irene Coin *et al.*)). La reordenación de acilo S → N también se usa en reacciones similares (Science, 1994, 266 (5186), 776-779 (Dawson P.E. *et al.*)). Estas estructuras se denominan generalmente péptidos interruptores o ligamientos químicos nativos y se usan con frecuencia como técnicas para la síntesis química o la conversión estructural de péptidos.

Basándose en los hechos descritos anteriormente, es concebible que los agentes de reticulación de diamina que tienen un sitio biodegradable experimentarán fácilmente reacciones de sustitución nucleófila intramolecular, y en realidad no ha habido informes que describan que se usan como agentes de reticulación para polisacáridos ácidos.

Existen informes que describen que los compuestos que tienen la estructura de diamina anterior en parte de la molécula se usan para reacciones de reticulación. Por ejemplo, el documento WO 96/34618 divulga un método en el que el 2-aminoacetato de 2-aminoetilo y el dicianato de hexametileno se mezclan entre sí para formar un agente de reticulación polifuncional y las proteínas que tienen grupos amino se reticulan con el mismo. Otro ejemplo se informa en el documento WO 99/11703 en el que el ácido alginico, el poli(ácido glutámico) o la carboximetilcelulosa se reticula con una dihidrazida o un ácido dicarboxílico en el que está presente un esqueleto de 2-aminoglicinato en el esqueleto de dihidrazida o el esqueleto de ácido dicarboxílico.

Incluso en estos informes, el uso de un agente reticulante que tiene una estructura como GlyC2N en la molécula implica la conversión de las estructuras de amino en ambos extremos para dar dos grupos carboxilo o dos grupos hidrazida para inhibir la reacción intramolecular. Es decir, los agentes de reticulación no tienen directamente una estructura de diamina con un sitio biodegradable en la molécula.

El documento EP 2353612 A1 describe un hidrogel inyectable reticulado *in situ* que se prepara mediante un método

que comprende las siguientes etapas: (1) introducir una disolución activa de reticulación en un recipiente para inyectables, en el que la disolución activa de reticulación contiene al menos una clase de macromoléculas biocompatibles, tales como un sulfato de condroitina, con más de dos grupos tiol en la cadena lateral; (2) sellar el recipiente para inyectables que contiene la disolución activa de reticulación; y (3) oxidar los grupos tiol en enlaces disulfuro para formar el hidrogel reticulado por oxígeno disuelto en la disolución activa de reticulación en el recipiente para inyectables sellado.

A pesar de una variedad de estudios realizados sobre los agentes de reticulación para polisacáridos ácidos, no se ha informado de agentes de reticulación de diamina que, sin la combinación con otras clases de moléculas, permitan un control fácil y simultáneo de la tensión física y el tiempo de desintegración según las aplicaciones de uso de materiales médicos al tiempo que garanticen la alta biocompatibilidad de los polisacáridos ácidos.

Lista de referencias

Bibliografía de patentes

Documento de patente 1: publicación de patente japonesa Kohyo n.º 2013-503688

Documento de patente 2: patente EP n.º 341745

Documento de patente 3: documento WO 99/10385

Documento de patente 4: documento WO 01/57093

Documento de patente 5: publicación de patente japonesa Kohyo n.º 2011-505362

Documento de patente 6: solicitud de publicación de patente japonesa Kokai n.º 2000-70356

Documento de patente 7: publicación de patente japonesa Kohyo n.º 2002-529549

Documento de patente 8: solicitud de publicación de patente japonesa Kokai n.º H6-73102

Documento de patente 9: documento WO 96/34618

Documento de patente 10: documento WO 99/11703

Documento de patente 11: documento EP 2353612 A1

Bibliografía no de patentes

Documento no de patente 1: Adv. Mater., 2011, 23 (12), H41-56 (Jason A. Burdick *et al.*)

Documento no de patente 2: Biomaterials, 1995, 16, 473-478 (Amnon Sintov *et al.*)

Documento no de patente 3: J. Biomater. appl., 1998, 12, 201-221 (C. Bourie *et al.*)

Documento no de patente 4: J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1976, 734-736. (Jack E. Baldwin)

Documento no de patente 5: J. Org. Chem., 1977, 42 (24), 3846-3852. (Jack E. Baldwin *et al.*)

Documento no de patente 6: Org. Lett., 2008, 10 (22), 5243-5246 (Natalia N. *et al.*)

Documento no de patente 7: J. Org. Chem. 2006, 71, 6171-6177 (Irene Coin *et al.*)

Documento no de patente 8: Science, 1994, 266 (5186), 776-779 (Dawson P.E. *et al.*)

Divulgación de la invención

Problema técnico

Los métodos de reticulación de cadenas de azúcares se han estudiado enérgicamente tal como se describió anteriormente. En los métodos de la categoría (3), se ha informado sobre el hecho de que los agentes de reticulación de diepóxido pueden alterar de manera drástica las propiedades de diversos polisacáridos, pero aún no es posible el control del tiempo de desintegración de manera al tiempo que se logran tales propiedades. Los agentes de reticulación de alquildiamina no tienen sitios biodegradables, y este hecho estructural hace imposible controlar el tiempo de desintegración determinado por la descomposición de los agentes de reticulación. Esos métodos en la categoría (4)

son complicados debido a la necesidad de una reacción de dos etapas que incluye la introducción de grupos reactivos y la reacción de reticulación. Por tanto, no se han realizado agentes de reticulación ideales que satisfagan toda la seguridad, la preparación fácil, la alteración eficiente de las propiedades físicas y las propiedades de desintegración. En particular, puede decirse que hay grandes dificultades implicadas en el desarrollo de agentes de reticulación que pueden modificar de manera eficiente las propiedades físicas y proporcionar propiedades de desintegración satisfactorias al mismo tiempo.

Cuando se usan materiales médicos que incluyen polisacáridos reticulados como, por ejemplo, materiales de relleno tisular o materiales que impiden la adhesión, se exige que los polisacáridos reticulados tengan una alta biocompatibilidad de manera natural y también se les exige particularmente que presenten tensión física para separar los tejidos entre sí (rendimiento de barrera) después de la administración junto con un rendimiento de desintegración rápido después del lapso de tiempo de un periodo recomendado. Los polisacáridos reticulados usados como materiales que impiden la adhesión tienen un desafío en el que el aumento de la tensión física hace que los materiales sean persistentes, mientras que la desintegración rápida conlleva una tensión física insuficiente. Debido a que estos fenómenos son una compensación, el desafío se encuentra en un nivel de dificultad muy alto y no se han realizado materiales que impidan la adhesión que incluyan polisacáridos reticulados que tengan los dos rendimientos anteriores.

No se conocen agentes de reticulación de diamina que, sin la combinación con otras clases de moléculas, permitan un control fácil y simultáneo de la tensión física y el tiempo de desintegración según las aplicaciones de uso de materiales médicos al tiempo que garantizan la alta biocompatibilidad de los polisacáridos ácidos.

La presente invención utiliza agentes de reticulación de diamina altamente prácticos, tal como se describirá en el presente documento, que pueden reticular polisacáridos ácidos por reacción de condensación directa con grupos carboxilo en los polisacáridos ácidos para dar productos reticulados que tengan tensión física apropiada y propiedades de desintegración rápida después del lapso de tiempo de un periodo recomendado.

Solución al problema

A la luz de los objetos anteriores, los inventores llevaron a cabo estudios exhaustivos para desarrollar agentes de reticulación de diamina capaces de proporcionar polisacáridos ácidos reticulados que tengan una tensión física apropiada y propiedades de desintegración apropiadas después del lapso de tiempo de un periodo recomendado según las aplicaciones de uso de materiales médicos.

Como resultado, los inventores han descubierto que un agente de reticulación de diamina que tiene sustituyentes específicos principalmente derivados de un aminoácido o un derivado del mismo y un aminoalcohol o un derivado del mismo y que tiene al menos un sitio biodegradable puede reticularse, sin combinación con otras clases de moléculas, un polisacárido ácido para dar un polisacárido ácido reticulado mientras permite un control fácil y simultáneo de la tensión física y el tiempo de desintegración del producto reticulado. La presente invención se ha completado en base al hallazgo. Si bien la presente invención se describe dentro del contexto de los polisacáridos ácidos reticulados de manera más generalmente, debe entenderse que la invención se refiere a sulfato de condroitina reticulado y a materiales médicos que comprenden el mismo tal como se definen en las reivindicaciones adjuntas.

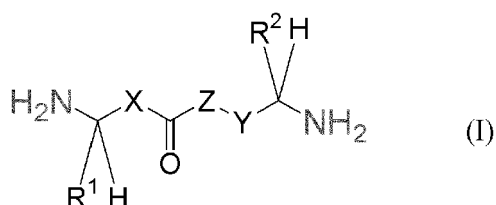
Específicamente, la presente invención se refiere a los siguientes aspectos.

(1) Un polisacárido ácido reticulado obtenido formando reticulaciones por un enlace amida entre grupos amino primarios en un agente de reticulación de diamina y grupos carboxilo en un polisacárido ácido;

en el que el polisacárido ácido es sulfato de condroitina; y en el que el agente de reticulación de diamina es un compuesto de diamina que tiene los grupos amino primarios en ambos extremos terminales y un enlace éster o tioéster en la molécula de manera que el carbono carbonílico del éster o tioéster está en una cadena lineal que conecta los dos grupos amino terminales, en el que el número de átomo en la cadena lineal entre al menos uno de los grupos amino y el carbono carbonílico en el éster o tioéster es de 1 a 5.

(2) El polisacárido ácido reticulado según (1), en el que el agente de reticulación de diamina se representa por la fórmula general (I) a continuación:

[Fórm. quím. 2]



en la que el número de átomos en la cadena lineal entre los grupos amino primarios en ambos extremos terminales es de 5 a 12,

5 X e Y son cada uno independientemente un enlace sencillo, un grupo alquileo sustituido o no sustituido, un grupo alquenileno sustituido o no sustituido, o un grupo alquinileno sustituido o no sustituido, con la condición de que X e Y no pueden ser enlaces sencillos al mismo tiempo;

Z representa un átomo de oxígeno o un átomo de azufre, preferiblemente un átomo de oxígeno;

10 R¹ y R² son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo -CONR³R⁴, un grupo -COOR⁵, un grupo alquilo sustituido o no sustituido, un grupo alquenilo sustituido o no sustituido, o un grupo alquinilo sustituido o no sustituido;

15 cualquier -CH₂- en un grupo alquileo, grupo alquenileno o grupo alquinileno representado por X o Y puede sustituirse con uno o más grupos seleccionados del grupo que consiste en grupo amida (-CONH-), grupo éster (-C(=O)-O-), grupo éter (-O-), grupo imino (-NH-) y grupo fenileno en los que cualquier grupo éster, grupo amida, grupo éter (-O-) y grupo imino (-NH-) presentes en X o Y no pueden estar directamente adyacentes a -CO-Z- en la fórmula (I),

20 cualquier -CH₂- en un grupo alquilo, grupo alquenilo o grupo alquinilo representado por R¹ o R² puede sustituirse con uno o más grupos seleccionados del grupo que consiste en >C=O, -CONH-, arileno, -O-, -NR⁶- y -S-;

25 los sustituyentes en X, Y, R¹ y R² se seleccionan del grupo que consiste en grupos hidroxilo, grupos alquilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, grupos fenilo, grupos indolilo, grupos diazolilo, grupos -(CH₂)_n-NHMe, grupos -(CH₂)_n-NMe₂, grupos -(CH₂)_n-CONR³R⁴, grupos -(CH₂)_n-COOR⁵, grupos -SMe y grupos -SH, y los sustituyentes en X e Y pueden seleccionarse del grupo que consiste en grupos 4-hidroxifenilo, átomos de halógeno, grupos nitro y grupos nitrilo, en los que n representa independientemente en cada caso un número entero de 0 a 4; y

30 R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo opcionalmente sustituido con grupo fenilo.

(3) El polisacárido ácido reticulado según (2), en el que el número de átomos en la cadena lineal entre los grupos amino en ambos extremos terminales es de 5 a 8.

35 (4) El polisacárido ácido reticulado según (2), en el que el número de átomos en la cadena lineal entre los grupos amino en ambos extremos terminales es de 5 ó 6.

(5) El agente de reticulación de diamina según uno cualquiera de (2) a (4), en el que

40 R¹ es un átomo de hidrógeno, o un grupo alquilo sustituido o no sustituido;

R² es un átomo de hidrógeno, un grupo -CONR³R⁴ o un grupo -COOR⁵;

X es un enlace sencillo o un grupo alquileo que puede sustituirse con halógeno;

45 Y es un grupo alquileo sustituido o no sustituido;

el/los sustituyente(s) en R¹ se selecciona del grupo que consiste en grupos metilo, grupos fenilo, grupos indolilo, grupos -COOR⁵ y grupos -S-Me; y

50 el/los sustituyente(s) en Y se selecciona del grupo que consiste en grupos metilo, grupos fenilo y grupos -COOR⁵.

(6) El polisacárido ácido reticulado según uno cualquiera de (2) a (4), en el que

55 X es un enlace sencillo; Y es un grupo >CR⁷R⁸; y

R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, un grupo indolilo, un grupo diazolilo, un grupo -(CH₂)_n-NHMe, un grupo -(CH₂)_n-NMe₂, un grupo -(CH₂)_n-CONR³R⁴, un grupo -(CH₂)_n-COOR⁵, un grupo -SH, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo.

60 (7) El polisacárido ácido reticulado según (6), en el que

R² es un grupo -CONR³R⁴ o un grupo -COOR⁵;

65 R⁷ es un átomo de hidrógeno; y

R⁸ es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

(8) El polisacárido ácido reticulado según (3) o (4), en el que al menos uno de X e Y se sustituye con un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, un grupo -CONR³R⁴, un grupo -COOR⁵, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo.

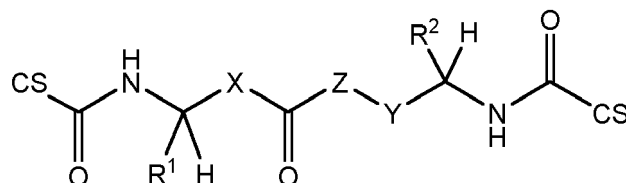
(9) El polisacárido ácido reticulado según (6), en el que R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, un grupo -CONR³R⁴, un grupo -COOR⁵, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo.

(10) El polisacárido ácido reticulado según (9), en el que R¹ es un átomo de hidrógeno, un grupo -(CH₂)₂-S-CH₃, un grupo -(CH₂)₃ ó 4-NHMe, un grupo -(CH₂)₃ ó 4-NMe₂ o un grupo -(CH₂)₁ ó 2-COOR⁵.

(11) El polisacárido ácido reticulado según (10), en el que R² es un grupo -CONR³R⁴ o un grupo -COOR⁵, y R⁷ y R⁸ son átomos de hidrógeno.

(12) El polisacárido ácido reticulado según (11), en el que R¹ es un átomo de hidrógeno.

(13) Un polisacárido ácido reticulado o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo representado por la fórmula general a continuación:



en la que CS es una estructura en la que un grupo carboxilo se excluye del sulfato de condroitina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

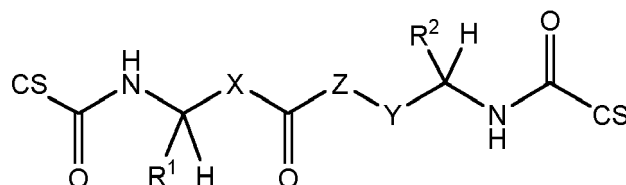
dos CS en la fórmula anterior son una misma molécula o moléculas diferentes del sulfato de condroitina,

X, Y, Z, R¹ a R⁶ son tal como se definieron en (2) anteriormente,

el número de átomos en la cadena lineal entre los grupos amino en ambos extremos terminales es de 5 a 8,

al menos uno de X e Y se sustituye con un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, un grupo -CONR³R⁴, un grupo -COOR⁵, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo.

(14) Un polisacárido ácido reticulado o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo representado por la fórmula general a continuación:



en la que CS es una estructura en la que un grupo carboxilo se excluye del sulfato de condroitina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

dos CS en la fórmula anterior son una misma molécula o moléculas diferentes del sulfato de condroitina,

Z, R¹ a R⁶ son tal como se definieron en (2) anteriormente,

el número de átomos en la cadena lineal entre los grupos amino primarios en ambos extremos terminales es de 5 a 12,

X es un enlace sencillo; Y es un grupo >CR⁷R⁸, y

R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, un grupo -CONR³R⁴, un grupo -COOR⁵, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo.

(15) El polisacárido ácido reticulado según uno cualquiera de (1) a (14), en el que el peso molecular promedio en peso del sulfato de condroitina es de 10.000 a 100.000.

(16) Un material médico que comprende el polisacárido ácido reticulado según uno cualquiera de (1) a (15).

(17) Un material de relleno tisular que comprende el polisacárido ácido reticulado según uno cualquiera de (1) a (15).

(18) Un material que impide la adhesión que comprende el polisacárido ácido reticulado según uno cualquiera de (1) a (15).

Efectos ventajosos de la invención

Los agentes de reticulación de diamina que se usan para la presente invención pueden conferir tensión física apropiada y propiedades de desintegración a los polisacáridos ácidos. Por tanto, los polisacáridos ácidos reticulados obtenidos reticulando un polisacárido ácido con el agente de reticulación presenta tensión física apropiada y propiedades de desintegración rápidas después del lapso de tiempo de un periodo recomendado, alcanzando de ese modo alta utilidad práctica. Además, los productos reticulados tienen una estructura distinta, y son útiles como materiales médicos representados por materiales que impiden la adhesión y materiales de relleno tisular.

Breve descripción de los dibujos

Las figuras que se refieren a polisacáridos ácidos reticulados distintos del sulfato de condroitina (CS) se proporcionan con fines de referencia.

[Figura 1] la figura 1 es un diagrama que ilustra los cambios en la viscosidad de materiales de CS reticulados hinchados (CSGlyC2N/AlaC2MeN/AlaC2Me2N/NC2N) con el tiempo.

[Figura 2] la figura 2 es un diagrama que ilustra los cambios de la viscosidad de materiales de AH reticulados hinchados (HAGlySerNH2/AlaC2MeN/NC2N) con el tiempo.

[Figura 3] la figura 3 es un diagrama que ilustra los cambios de la viscosidad de materiales de CMC reticulados hinchados (CMCGlySerNH2/AlaC2MeN/NC2N) con el tiempo.

[Figura 4] la figura 4 es un diagrama que ilustra los cambios de la viscosidad de materiales de Alg reticulados hinchados (Alg-GlySerNH2/AlaC2MeN/NC2N) con el tiempo.

[Figura 5] la figura 5 es un diagrama que ilustra la tensión física de materiales de CS reticulados hinchados.

[Figura 6] la figura 6 es un diagrama que ilustra evaluaciones del rendimiento persistente de productos de CS reticulados (CSGlySerEt/GlyC2N/AlaC2MeN/AlaC2Me2N) bajo la piel abdominal de ratas.

[Figura 7] la figura 7 es un diagrama que ilustra los resultados de una prueba de hinchamiento/desintegración con respecto a productos de CS reticulados (CS-GlySerNH2).

[Figura 8] la figura 8 es un diagrama que ilustra los resultados de una prueba de hinchamiento/desintegración con respecto a productos de HA reticulados (HA-GlySerNH2).

[Figura 9] la figura 9 es un diagrama que ilustra los resultados de una prueba de hinchamiento/desintegración con respecto a productos de CMC reticulados (CMC-GlySerNH2).

[Figura 10] la figura 10 es un diagrama que ilustra los resultados de una prueba de hinchamiento/desintegración con respecto a productos de Alg reticulados (Alg-GlySerNH2).

Modo para llevar a cabo la invención

En la memoria descriptiva, el término grupo alquilo se refiere a un grupo hidrocarbonado monovalente, lineal, saturado y alifático que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 1 a 8 átomos de carbono, o un grupo hidrocarbonado monovalente, ramificado o cíclico, saturado y alifático que tiene de 3 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 3 a 8 átomos de carbono. El término grupo alqueno se refiere a un grupo hidrocarbonado divalente, lineal, saturado y alifático que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 1 a 8 átomos de carbono, o un grupo hidrocarbonado divalente, ramificado o cíclico, saturado y alifático que tiene de 3 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 3 a 8 átomos de carbono.

El término grupo alqueno se refiere a un grupo hidrocarbonado monovalente, lineal y alifático con de 2 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 2 a 8 átomos de carbono que tiene al menos un doble enlace, o un grupo hidrocarbonado monovalente, ramificado y alifático con de 3 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 3 a 8

átomos de carbono que tiene al menos un doble enlace. El término grupo alquenileno se refiere a un grupo hidrocarbonado divalente, lineal y alifático con de 2 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 2 a 8 átomos de carbono que tiene al menos un doble enlace, o un grupo hidrocarbonado divalente, ramificado y alifático que tiene de 3 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 3 a 8 átomos de carbono que tiene al menos un doble enlace.

El término grupo alquinilo se refiere a un grupo hidrocarbonado monovalente, lineal y alifático con de 2 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 2 a 8 átomos de carbono que tiene al menos un triple enlace, o un grupo hidrocarbonado monovalente, ramificado y alifático con de 3 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 3 a 8 átomos de carbono que tiene al menos un triple enlace. El término grupo alquinileno se refiere a un grupo hidrocarbonado divalente, lineal y alifático con de 2 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 2 a 8 átomos de carbono que tiene al menos un triple enlace, o un grupo hidrocarbonado divalente, ramificado y alifático que tiene de 3 a 12 átomos de carbono, o preferiblemente de 3 a 8 átomos de carbono que tiene al menos un triple enlace.

El término grupo arileno se refiere a un grupo hidrocarbonado divalente, monocíclico o policíclico y aromático que tiene de 6 a 20 átomos de carbono que constituyen el anillo. Los ejemplos específicos incluyen fenileno (1,2-, 1,3- o 1,4-fenileno) y naftileno.

En la memoria descriptiva, los intervalos numéricos indicados con "a" incluyen los valores antes y después del "a" como el mínimo y el máximo. En el caso donde una pluralidad de sustancias que pertenecen a una sola clase de componente están presentes en una composición, el contenido total de tales sustancias presentes en la composición se indica como el contenido de ese componente en la composición a menos que se mencione lo contrario.

El estilo usado en la memoria descriptiva para describir los polisacáridos ácidos reticulados es (tipo de polisacárido ácido)-(tipo de agente de reticulación de diamina). Los códigos entre paréntesis que siguen a los nombres de los compuestos se usan como las abreviaturas de los agentes de reticulación de diamina.

Como ejemplo, el sulfato de condroitina reticulado obtenido reticulando sulfato de condroitina de sodio con diclorhidrato de 2-aminoacetato de 2-aminoetilo (GlyC2N) como el agente de reticulación de diamina se representa como CS-GlyC2N.

A continuación en el presente documento, la presente invención se describirá en detalle. Se proporcionan referencias a polisacáridos ácidos distintos del sulfato de condroitina para fines de antecedentes. Debe entenderse que la invención se refiere a sulfato de condroitina reticulado tal como se define por las reivindicaciones adjuntas.

Polisacáridos ácidos

Los polisacáridos ácidos son polisacáridos que tienen grupos carboxilo. Los ejemplos incluyen ácido hialurónico, condroitina, sulfato de condroitina, sulfato de dermatán, carboximetilcelulosa, carboxietilcelulosa, carboximetildextrano, carboxietildextrano, carboximetilpululano, carboxietilpululano, carboximetilamilosa, carboxietilamilosa celulosa oxidada y ácido algínico, etc. Los grupos carboxilo y los grupos sulfato en los polisacáridos ácidos pueden estar en forma de ácido libre sin formar una sal, o pueden estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. La presente invención utiliza sulfato de condroitina.

Los ejemplos de las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales con iones de metales alcalinos tales como sales de sodio y sales de potasio; y sales con iones de metales alcalinotérreos tales como sales de magnesio y sales de calcio. Desde los puntos de vista de la aplicabilidad y afinidad biológica, los derivados de polisacáridos ácidos son preferiblemente sales farmacéuticamente aceptables con iones de metales alcalinos, y más preferiblemente sales de sodio.

Los polisacáridos ácidos pueden obtenerse a partir de fuentes naturales o producirse mediante métodos conocidos dependiendo de los tipos de los mismos.

El peso molecular de los polisacáridos ácidos no está particularmente limitado y puede seleccionarse de manera apropiada según factores tales como los tipos de monosacáridos que forman los polisacáridos ácidos, y los fines. El peso molecular promedio en peso de los polisacáridos ácidos puede ser, por ejemplo, de 10.000 a 5.000.000, preferiblemente de 15.000 a 2.000.000, y más preferiblemente de 15.000 a 1.000.000. El polisacárido ácido deseado puede seleccionarse usando una viscosidad de una disolución del mismo como el índice en vez del peso molecular.

El tipo de sulfato de condroitina no está particularmente limitado y puede ser cualquiera de sulfato de condroitina A, sulfato de condroitina B, sulfato de condroitina C, sulfato de condroitina D, sulfato de condroitina E y similares. El tipo del sulfato de condroitina puede seleccionarse de manera apropiada según los fines (tal como, por ejemplo, aplicaciones de uso como materiales médicos). El peso molecular promedio en peso del sulfato de condroitina no está particularmente limitado y puede seleccionarse de manera apropiada según factores tales como los fines. El peso molecular promedio en peso es preferiblemente de 10.000 a 100.000, y más preferiblemente de 10.000 a 50.000.

Agentes de reticulación de diamina

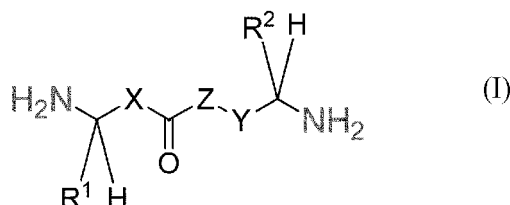
El agente de reticulación de diamina es un agente de reticulación de diamina para polisacáridos ácidos que consiste en un compuesto de diamina que tiene un grupo amino primario en ambos extremos y un enlace éster o tioéster en la molécula. En el compuesto de diamina, al menos uno de los grupos amino y el carbono carbonílico en el éster o tioéster están interrumpidos por una cadena lineal que tiene de 1 a 5 átomos. En el presente documento, la "cadena lineal" que interrumpe los dos puntos en el compuesto indica una estructura que conecta los dos con el menor número de átomos.

En tales compuestos de diamina y, por ejemplo, aquellas estructuras que están terminadas con un grupo amino primario en ambos extremos y tienen el carbono carbonílico descrito anteriormente en una cadena lineal que conecta los dos grupos amino terminales, el estado de transición tiende a tomar un anillo de 3 a 7-exo-trig según las reglas empíricas antes mencionadas cuando el número de átomos que forman la cadena lineal entre los dos grupos amino terminales es de 5 a 12.

Se ha considerado que los compuestos de diamina que tienen una estructura que provoca que los compuestos tiendan a tomar tal estado de transición como no utilizables para efectuar la reticulación. Sin embargo, los inventores han encontrado por primera vez que incluso tales compuestos pueden usarse para la reticulación de polisacáridos ácidos.

Un ejemplo de los compuestos anteriores es un agente de reticulación de diamina representado por la fórmula general (I) a continuación:

[Fórm. quím. 4]



[en la que el número de átomos en la cadena lineal entre los grupos amino en ambos extremos terminales es de 5 a 12,

X e Y son cada uno independientemente un enlace sencillo, un grupo alquileo sustituido o no sustituido, un grupo alquenileno sustituido o no sustituido, o un grupo alquinileno sustituido o no sustituido, con la condición de que X e Y no pueden ser enlaces sencillos al mismo tiempo;

Z representa un átomo de oxígeno o un átomo de azufre;

R¹ y R² son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo -CONR³R⁴, un grupo -COOR⁵, un grupo alquilo sustituido o no sustituido, un grupo alquenilo sustituido o no sustituido, o un grupo alquinilo sustituido o no sustituido;

cualquier -CH₂- en un grupo alquileo, grupo alquenileno o grupo alquinileno representado por X o Y puede sustituirse con uno o más grupos seleccionados del grupo que consiste en grupo amida (-CONH-), grupo éster (-C(=O)-O-), grupo éter (-O-), grupo imino (-NH-) y grupo fenileno, en los que cualquier grupo éster, grupo amida, grupo éter (-O-) y grupo imino (-NH-) presentes en X o Y no pueden estar directamente adyacentes a -CO-Z- en la fórmula (I),

cualquier -CH₂- en un grupo alquilo, grupo alquenilo o grupo alquinilo representado por R¹ o R² puede sustituirse con uno o más grupos seleccionados del grupo que consiste en >C=O, -CONH-, arileno, -O-, -NR⁶- y -S-;

los sustituyentes en X, Y, R¹ y R² se seleccionan del grupo que consiste en grupos hidroxilo, grupos alquilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, grupos fenilo, grupos indolilo, grupos diazolilo, grupos -(CH₂)_n-NHMe, grupos -(CH₂)_n-NMe₂, grupos -(CH₂)_n-CONR³R⁴, grupos -(CH₂)_n-COOR⁵, grupos -SMe y grupos -SH, y los sustituyentes en X e Y pueden seleccionarse del grupo que consiste en grupos 4-hidroxifenilo, átomos de halógeno, grupos nitro y grupos nitrilo, en los que n representa independientemente en cada caso un número entero de 0 a 4; y

R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo opcionalmente sustituido con grupo fenilo].

En los agentes de reticulación de diamina, es preferible que la estructura del agente de reticulación de diamina tenga al menos un enlace que pueda descomponerse en un organismo vivo, concretamente, sitio biodegradable, en la cadena lineal entre los dos grupos amino terminales. Como enlaces que pueden descomponerse, entre otros, son preferibles enlaces éster y enlaces tioéster, y son más preferibles los enlaces éster. En la memoria descriptiva, el

término sitio biodegradable significa una estructura que corresponde a $-C(=O)-Z-$ en la fórmula (I), e indica un enlace éster o un enlace tioéster a menos que se mencione lo contrario. El número de los sitios biodegradables es de preferiblemente 1 ó 2, y más preferiblemente 1.

El tiempo de desintegración de los polisacáridos ácidos reticulados puede controlarse fácilmente seleccionando los tipos y números de los sustituyentes en los grupos X e Y cerca del sitio biodegradable (el enlace éster o el enlace tioéster) en el agente de reticulación de diamina, y los tipos de los grupos R^1 y R^2 . Es decir, la tasa de desintegración de polisacáridos ácidos reticulados en organismos vivos puede controlarse independientemente de los tipos de polisacáridos ácidos.

La posición del agente de reticulación de diamina representado por la fórmula general (I) puede ser cualquier posición en los grupos X e Y siempre que puedan afectar la estabilidad del sitio biodegradable, y específicamente, al menos una puede seleccionarse preferiblemente del grupo que consiste en la posición α , posición β y posición γ en relación con el sitio biodegradable. En el caso en el que X o Y es un enlace sencillo, el control del tiempo de desintegración de polisacáridos ácidos reticulados en organismos vivos es viable manipulando las estructuras de R^1 y R^2 que pueden portar sustituyentes. El número de los sustituyentes puede seleccionarse según los fines y es, por ejemplo, preferiblemente de 0 a 8, y más preferiblemente de 1 a 4.

Por ejemplo, el tipo de los sustituyentes es preferiblemente al menos uno seleccionado del grupo que consiste en grupos electroaceptores, grupos electrodonadores y grupos de impedimento estérico.

Cuando, por ejemplo, los sustituyentes introducidos en los grupos X e Y, y R^1 y R^2 son grupos electroaceptores, los sitios biodegradables son más propensos a la descomposición y el tiempo de desintegración de polisacáridos ácidos reticulados tiende a disminuir en comparación a cuando no están presentes sustituyentes. Por tanto, el tiempo de desintegración de polisacáridos ácidos reticulados puede controlarse fácilmente para que esté dentro del intervalo deseado seleccionando los grupos electroaceptores mientras que se usa la fuerza de los grupos electroaceptores tales como, por ejemplo, la electronegatividad y las constantes de Hammett como indicadores. En detalle, el tiempo de desintegración de polisacáridos ácidos reticulados en organismos vivos tiende a reducirse cuando se seleccionan grupos electroaceptores fuertes. Específicamente, la introducción de átomos de halógeno tales como flúor, cloro y bromo tiende a reducir el tiempo de desintegración de polisacáridos ácidos en organismos vivos para aumentar la electronegatividad ($F > Cl > Br$).

Los grupos electroaceptores no están particularmente limitados siempre que puedan introducirse en los grupos X e Y, y también R^1 y R^2 , y pueden seleccionarse de manera apropiada de los grupos electroaceptores que se usan habitualmente. Específicamente, los grupos electroaceptores preferidos son átomos de halógeno tales como flúor, cloro y bromo; y grupos carboxilo.

Cuando los sustituyentes introducidos en los grupos X e Y, y R^1 y R^2 son grupos electrodonadores, los enlaces covalentes en los sitios biodegradables se vuelven menos propensos a la descomposición que cuando no están presentes sustituyentes y por consiguiente el tiempo de desintegración de polisacáridos ácidos reticulados en organismos vivos tiende a alargarse. Los grupos electrodonadores pueden seleccionarse mientras se usan, por ejemplo, constantes de Hammett como indicadores.

Los grupos electrodonadores no están particularmente limitados siempre que puedan introducirse en los grupos X e Y, y también R^1 y R^2 , y pueden seleccionarse de manera apropiada de los grupos electrodonadores que se usan habitualmente. Los ejemplos específicos de los grupos electrodonadores incluyen grupos alquénilo y grupos alquínilo.

Cuando los sustituyentes introducidos en los grupos X e Y, y también R^1 y R^2 son grupos de impedimento estérico, el tiempo de desintegración de polisacáridos ácidos reticulados en organismos vivos tiende a alargarse. Cuando, por ejemplo, X es un enlace sencillo, los grupos de impedimento estérico en R^1 pueden seleccionarse mientras se usan los índices de hidropatía de aminoácidos como indicadores.

Los ejemplos de los grupos de impedimento estérico incluyen grupos alquilo lineales tales como grupo metilo, grupo etilo, grupo propilo y grupo butilo; grupo alquilo ramificados tales como grupo isopropilo, grupo isobutilo y grupo t-butilo; grupos cicloalquilo tales como grupo ciclohexilo; y grupos arilo tales como grupo fenilo. De estos, entre otros, son preferibles grupos alquilo ramificados y grupos cicloalquilo.

Aunque los sustituyentes en los grupos X e Y y en R^1 y R^2 no se clasifican claramente como grupos electroaceptores, grupos electrodonadores o grupos de impedimento estérico, todavía es posible controlar la tasa de desintegración de los polisacáridos ácidos reticulados en organismos vivos seleccionando los tipos y posiciones de los sustituyentes mientras se usan indicadores tales como constantes de Hammett e índices de hidropatía.

El ajuste fino de la tasa de desintegración es viable mediante la introducción tanto de grupos electroaceptores como de grupos electrodonadores. Alternativamente, la tasa de desintegración de polisacáridos ácidos reticulados en organismos vivos puede ajustarse finamente mediante la introducción de sustituyentes que tienen propiedades electroceptoras o propiedades electrodonadoras junto con propiedades de impedimento estérico.

Los sustituyentes que pueden introducirse en los grupos X e Y, y los grupos electroaceptores, grupos electrodonadores y grupos de impedimento estérico que pueden introducirse en R¹ y R² se seleccionan del grupo que consiste en grupos hidroxilo, grupos alquilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, grupos indolilo, grupos diazolilo, grupos -(CH₂)_n-NHMe, grupos -(CH₂)_n-NMe₂, grupos -(CH₂)_n-CONR³R⁴, grupos -(CH₂)_n-COOR⁵ y grupos -SH, y los sustituyentes en X e Y pueden seleccionarse del grupo que consiste en grupos fenilo, grupos 4-hidroxifenilo, átomos de halógeno, grupos nitro y grupos nitrilo, en los que n representa independientemente en cada caso un número entero de 0 a 4.

La estructura de los agentes de reticulación de diamina tiene preferiblemente la estructura de la fórmula general (I) descrita anteriormente. En particular, el número de átomos en la cadena lineal entre los dos grupos amino terminales es preferiblemente de 5 a 12, más preferiblemente de 5 a 8, y lo más preferiblemente 5 ó 6.

Es preferible que la estructura de los agentes de reticulación de diamina se componga únicamente de aminoácidos que se producen de manera natural o derivados de los mismos. Por ejemplo, un agente de reticulación de diamina más preferido es uno que tiene un enlace éster o un enlace tioéster que se obtiene mediante la reacción de condensación de al menos un grupo -OH o un grupo -SH en un derivado de aminoácido seleccionado del grupo que consiste en derivados de serina, derivados de treonina, derivados de tirosina y derivados de cisteína, con un grupo carboxilo en un aminoácido que se produce de manera natural. En este caso, es más preferible que los grupos carboxilo en los derivados de serina, los derivados de treonina, los derivados de tirosina y los derivados de cisteína sean estructuras de éster o estructuras de amida.

Los ejemplos específicos de los aminoácidos que se producen de manera natural incluyen glicina, alanina, β-alanina, asparagina, serina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, tirosina, triptófano, metionina, fenilalanina, treonina, valina, isoleucina, leucina, histidina, norvalina, norleucina, isoserina, ácido aminobutírico, ácido aminovalérico, ácido aminoheptanoico, ácido aminooctanoico, ácido aminodecanoico, ácido aminoundecanoico, ácido aminododecanoico e isómeros estructurales de los mismos.

De estos, glicina, alanina, β-alanina, asparagina, serina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, tirosina, triptófano, metionina, fenilalanina, treonina, valina, isoleucina, leucina, histidina, norvalina, norleucina e isoserina pueden usarse preferiblemente.

Cuando el aminoácido es ácido aspártico o ácido glutámico, es más preferible que el grupo carboxilo de la cadena lateral tiene una estructura de éster o una estructura de amida.

Cuando se usa un derivado de lisina, ornitina o arginina en la presente invención, el derivado puede ser uno en el que el grupo amino de la cadena lateral está N-alquilado.

Los compuestos de fórmula (I) que satisfacen los requisitos mencionados anteriormente en los agentes de reticulación de diamina de la invención, y las realizaciones preferidas de los mismos se describirán a continuación.

Los agentes de reticulación de diamina para polisacáridos ácidos según la invención son tal como se describieron anteriormente en el presente documento. En el compuesto de la fórmula (I) que constituye el agente de reticulación, X e Y son cada uno independientemente un enlace sencillo (con la condición de que X e Y no pueden ser enlaces sencillos al mismo tiempo), un grupo alquileo sustituido o no sustituido, un grupo alquilenilo sustituido o no sustituido, o un grupo alquinileno sustituido o no sustituido.

X es preferiblemente un enlace sencillo o un grupo alquileo opcionalmente halogenado, y es más preferiblemente un enlace sencillo.

En otra realización preferida, X es preferiblemente un grupo alquileo, un grupo alquilenilo o un grupo alquinileno sustituido con grupo fenilo, grupo 4-hidroxifenilo, grupo -CONR³R⁴, grupo -COOR⁵, átomo de halógeno, grupo nitro o grupo nitrilo.

Y es preferiblemente un grupo alquileo sustituido o no sustituido. En el presente documento, los sustituyentes en Y se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste en grupos metilo, grupos fenilo y grupos -COOR⁵. En otra realización preferida, Y es preferiblemente >CR⁷R⁸ en el que R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, un grupo indolilo, un grupo diazolilo, un grupo -(CH₂)_n-NHMe, un grupo -(CH₂)_n-NMe₂, un grupo -(CH₂)_n-CONR³R⁴, un grupo -(CH₂)_n-COOR⁵, un grupo -SH, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo, preferiblemente cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, grupo -CONR³R⁴, un grupo -COOR⁵, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo, y todavía más preferiblemente un átomo de hidrógeno. En otra realización preferida, R⁷ es un átomo de hidrógeno y R⁸ es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

Z representa un átomo de oxígeno o un átomo de azufre, y preferiblemente un átomo de oxígeno.

R¹ y R² son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo -CONR³R⁴, un grupo -COOR⁵, un grupo alquilo sustituido o no sustituido, un grupo alqueno sustituido o no sustituido, o un grupo alquilo sustituido o no sustituido.

- 5 R¹ es preferiblemente un átomo de hidrógeno, o un grupo alquilo sustituido o no sustituido, y más preferiblemente un átomo de hidrógeno.

En el presente documento, los sustituyentes en el grupo alquilo representado por R¹ se seleccionan preferiblemente del grupo que consiste en grupos metilo, grupos fenilo, grupos indolilo, grupos -COOR⁵ y grupos -S-Me. En otra
10 realización preferida, R¹ es preferiblemente un átomo de hidrógeno, un grupo -(CH₂)₂-S-CH₃, un grupo -(CH₂)₃ ó 4-NHMe, un grupo -(CH₂)₃ ó 4-NMe₂ o un grupo (CH₂)₁ ó 2-COOR⁵.

R² es preferiblemente un átomo de hidrógeno, un grupo -CONR³R⁴ o un grupo -COOR⁵. En otra realización preferida,
15 R² es preferiblemente un grupo -CONR³R⁴ o un grupo -COOR⁵.

R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo opcionalmente sustituido
con grupo fenilo.

En el compuesto de fórmula (I) que constituye el agente de reticulación de diamina, el número de átomos en la cadena
20 lineal entre los dos grupos amino terminales es de 5 a 12, preferiblemente de 5 a 8, y más preferiblemente de 5 ó 6.

El agente de reticulación de diamina se usa preferiblemente en forma de sal divalente. Los tipos de las sales no están
particularmente limitados, pero son preferibles sales farmacéuticamente aceptables. Específicamente, al menos una
25 seleccionada de sales de clorhidrato, sales de sulfato, sales de carbonato, sales de fosfato y sales de nitrato son
preferibles, y sales de clorhidrato son más preferibles.

Los ejemplos específicos de los agentes de reticulación de diamina representados por la fórmula (I) incluyen:

30 2-aminoacetato de 2-aminoetilo (GlyC2N), por ejemplo, clorhidrato de GlyC2N (compuesto 4) (ejemplo 1);

(S)-2-amino-3-(2-aminoacetoxi)propanoato de etilo (GlySerEt), por ejemplo, diclorhidrato de GlySerEt (compuesto 7)
(ejemplo 2);

35 2-aminoacetato de (S)-2,3-diamino-3-oxopropilo (GlySerNH₂), por ejemplo, diclorhidrato de GlySerNH₂ (compuesto
10) (ejemplo 3);

2-aminoacetato de (S)-2-amino-3-(metilamino)-3-oxopropilo (GlySerNHMe), por ejemplo, diclorhidrato de GlySerNHMe
(compuesto 14) (ejemplo 4);

40 2-aminoacetato de (S)-2-amino-3-(dimetilamino)-3-oxopropilo (GlySerNMe₂), por ejemplo, diclorhidrato de
GlySerNMe₂ (compuesto 17) (ejemplo 5);

(S)-2-amino-4-(2-aminoacetoxi)butanoato de etilo (GlyHomoSerEt), por ejemplo, diclorhidrato de GlyHomoSerEt
(compuesto 20) (ejemplo 6);

45 2-aminopropanoato de (2S)-1-aminopropan-2-ilo (AlaC2MeN), por ejemplo; diclorhidrato de AlaC2MeN (compuesto
24) (ejemplo 7);

50 2-aminopropanoato de (S)-1-amino-2-metilpropan-2-ilo (AlaC2Me2N), por ejemplo, diclorhidrato de AlaC2Me2N
(compuesto 27) (ejemplo 8);

2-aminoacetato de 1-aminopropan-2-ilo (GlyC2MeN), por ejemplo, diclorhidrato de GlyC2MeN (compuesto 29)
(ejemplo 9);

55 2-aminoacetato de 1-amino-2-metilpropan-2-ilo (GlyC2Me2N), por ejemplo, diclorhidrato de GlyC2Me2N (compuesto
31) (ejemplo 10);

2-aminoetanotioato de S-(2-aminoetilo) (GlySC2N), por ejemplo, diclorhidrato de GlySC2N (compuesto 34) (ejemplo
11);

60 2-aminoacetato de 4-(2-aminoetil)fenilo (GlyPhC2N), por ejemplo, diclorhidrato de GlyPhC2N (compuesto 37) (ejemplo
12);

65 (S)-2-(2-aminoacetoxi)propanoato de 2-aminoetilo (GlylacC2N), por ejemplo, diclorhidrato de GlylacC2N (compuesto
42) (ejemplo 13);

2-aminoacetato (S)-2-amino-3-bencilamino-3-oxopropilo (GlySerNHBn), por ejemplo, diclorhidrato de GlySerNHBn (compuesto 45) (ejemplo 14);

5 2-aminoacetato de (S)-2-amino-3-(octilamino)-3-oxopropilo (GlySerNHC8), por ejemplo, diclorhidrato de GlySerNHC8 (compuesto 48) (ejemplo 15);

8-aminooctanoato de (S)-3-amino-4-etoxi-4-oxobutilo (OctHomoSerEt), por ejemplo, diclorhidrato de OctHomoSerEt (compuesto 52) (ejemplo 16);

10 2-(2-aminoacetamido)acetato de 2-aminoetilo (GlyGlyC2N), por ejemplo clorhidrato de GlyGlyC2N (compuesto 55) (ejemplo 43);

2-aminoacetato de 2-(2-aminoetoxi)etilo (GlyC2OC2N), por ejemplo, diclorhidrato de GlyC2OC2N (compuesto 58) (ejemplo 44);

15 2-aminoacetato de 2-((2-aminoetil)amino)etilo (GlyC2NC2N), por ejemplo, triclorhidrato de GlyC2NC2N (compuesto 61) (ejemplo 45);

20 2-amino-4-metilpentanoato de (S)-2-aminoetilo (LeuC2N), por ejemplo, diclorhidrato de LeuC2N (compuesto 64) (ejemplo 46);

2-amino-3-fenilpropanoato de (S)-2-aminoetilo (PheC2N), por ejemplo, diclorhidrato de PheC2N (compuesto 67) (ejemplo 47);

25 2-amino-3-(1H-indol-3-il)propanoato de (S)-2-aminoetilo (TrpC2N), por ejemplo, diclorhidrato de TrpC2N (compuesto 70) (ejemplo 48);

2-aminopropanoato de (S)-(2R,3S)-3-amino-4-(etilamino)-4-oxobutan-2-ilo (AlaThrNHEt), por ejemplo, diclorhidrato de AlaThrNHEt (compuesto 74) (ejemplo 49);

30 2-amino-4-(metiltio)butanoato de (S)-2-aminoetilo (MetC2N), por ejemplo, diclorhidrato de MetC2N (compuesto 77) (ejemplo 50);

35 3-amino-2-fluoropropanoato de 2-aminoetilo (β Ala(F)C2N), por ejemplo, diclorhidrato de β Ala(F)C2N (compuesto 81) (ejemplo 51);

2-amino-2-metilpropanoato de 2-aminoetilo ((Me)AlaC2N), por ejemplo, diclorhidrato de (Me)AlaC2N (compuesto 84) (ejemplo 52).

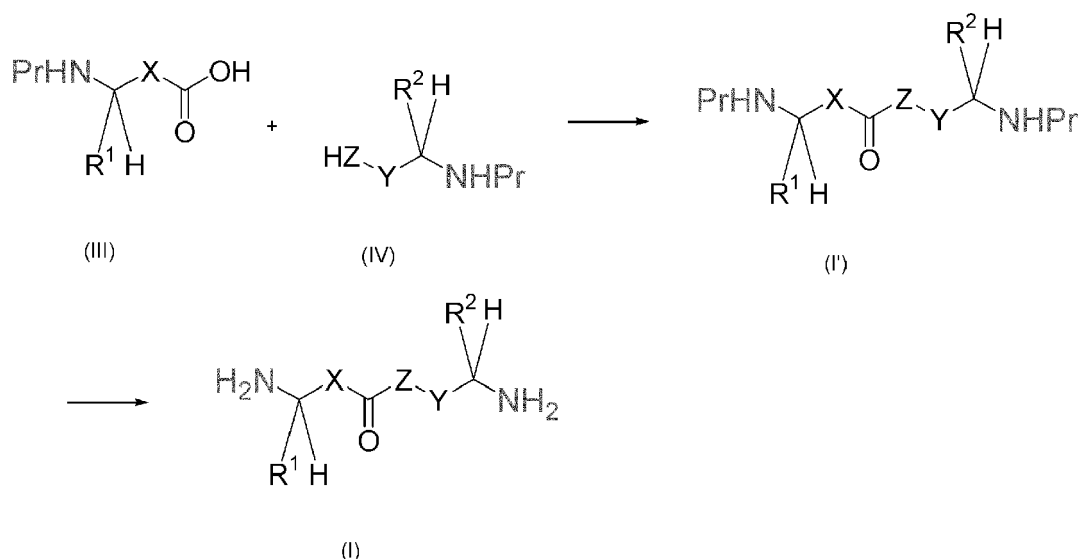
40 Tal como se mostró anteriormente, los agentes de reticulación tienen una estructura relativamente simple. Teniendo en cuenta la eficiencia y biocompatibilidad de la reacción, son más deseables los agentes de reticulación que tienen un bajo peso molecular y una estructura simple.

Métodos para producir agentes de reticulación de diamina representados por la fórmula (I)

45 El agente de reticulación de diamina representado por la fórmula (I) puede producirse fácilmente por los expertos en la técnica, comenzando a partir de compuestos que se producen de manera natural o compuestos disponibles comercialmente que tienen los grupos deseados con referencia al siguiente esquema de reacción y los métodos descritos en los ejemplos.

50

[Fórm. quím. 6]



En la fórmula anterior, R^1 , R^2 , X, Y y Z son tal como se definen en la fórmula (I), y Pr es un grupo protector de amino tal como Boc (t-butoxicarbonilo).

Específicamente, el agente de reticulación de diamina representado por la fórmula (I) puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (III) que tiene un grupo amino protegido con un compuesto de fórmula (IV) que tiene un grupo amino protegido en un disolvente en presencia de un agente de condensación y opcionalmente en presencia de una base para condensar el grupo -COOH que posee el compuesto de fórmula (III) con el grupo -OH o el grupo -SH en el compuesto de fórmula (IV). Preferiblemente, tal como se describió anteriormente, el agente de reticulación puede obtenerse condensando al menos un grupo -OH o un grupo -SH en un derivado de aminoácido seleccionado del grupo que consiste en derivados de aminoácido que se producen de manera natural, por ejemplo, derivados de serina, derivados de treonina, derivados de tirosina y derivados de cisteína, con un grupo carboxilo en un aminoácido derivado de un organismo vivo.

Aunque los disolventes no están particularmente limitados siempre que los disolventes puedan disolver el compuesto de fórmula (III) y el compuesto de fórmula (IV), son preferibles los disolventes orgánicos. Los ejemplos de los disolventes orgánicos incluyen, pero no se limitan a, diclorometano, dimetilformamida, 1,2-dicloroetano y tetrahidrofurano, siendo preferibles el diclorometano y la dimetilformamida.

Aunque el agente de condensación usado puede ser cualquiera de diversos agentes de condensación pueden usarse adecuadamente, entre otros, dicitohexilcarbodiimida (DCC), diisopropilcarbodiimida (DIC), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDCI), cloruro bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfínico (BOP-Cl) y carbonildiimidazol (CDI).

La base usada puede ser cualquiera de diversas bases, y, entre otras, pueden usarse adecuadamente trietilamina y N, N-dimetil-4-aminopiridina (DMAP).

Aunque la temperatura en la reacción de condensación no está particularmente limitada y puede seleccionarse de manera apropiada según el tipo de disolvente usado, la temperatura es preferiblemente de 5 a 60°C, y más preferiblemente de 15 a 30°C.

Polisacáridos ácidos reticulados y métodos para la producción de los mismos

La reticulación es la formación de enlaces covalentes entre moléculas de polímero. La formación de enlaces covalentes puede ocurrir de manera intramolecular o entre diferentes moléculas de polímero.

El término polisacárido ácido reticulado se refiere a un polisacárido ácido que se ha reticulado en el que las reticulaciones pueden formarse mediante enlace covalente entre grupos en la misma molécula o en diferentes moléculas del polisacárido ácido.

En la invención, el término polisacárido ácido reticulado se refiere a un producto obtenido formando reticulaciones por enlace amida entre grupos carboxilo en moléculas de polisacárido ácido a través de grupos amino en el agente de reticulación de diamina. Por ejemplo, un producto de este tipo puede obtenerse mediante una reacción de una etapa que forma los enlaces covalentes mediante un método de amidación convencional. Los grupos carboxilo emparejados pueden estar presentes en la molécula o en diferentes moléculas del polisacárido. Es decir, un aspecto de la invención se refiere a un método para producir polisacáridos ácidos reticulados que incluye una etapa de condensación de dos

grupos carboxilo en un polisacárido ácido con dos grupos amino en el agente de reticulación de diamina mediante la reacción de condensación.

En un método de amidación a modo de ejemplo, la reacción se realiza usando un agente de condensación tal como una carbodiimida soluble en agua (por ejemplo, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) o DMT-MM (cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio N hidratado) en un disolvente, un método para reticular un polisacárido ácido y el agente de reticulación de diamina usando un método tal como un método de anhídrido de ácido simétrico, puede citarse un método de anhídrido de ácido mixto o un método de éster activo. Las condiciones de reacción en el método de amidación pueden seleccionarse de manera apropiada según los tipos de polisacárido ácido y el agente de reticulación de diamina que se usan.

El equivalente del agente de reticulación de diamina alimentado en relación con los polisacáridos ácidos es preferiblemente de 0,001 a 0,500 equivalentes (eq.), más preferiblemente de 0,003 a 0,400 eq., y lo más preferiblemente de 0,005 a 0,300 eq. por 1,00 eq. de los grupos carboxilo en el polisacárido ácido correspondiente. En el presente documento, el término "equivalente" indica el equivalente molar a menos que se mencione lo contrario.

En la reacción de grupos carboxilo en el polisacárido ácido con el agente de reticulación de diamina, la concentración del polisacárido ácido en el disolvente es preferiblemente del 0,5 al 50% en peso, y más preferiblemente del 1 al 40% en peso.

Aunque el disolvente usado en la reacción de reticulación no está particularmente limitado siempre que el disolvente pueda disolver el polisacárido ácido y el agente de reticulación de diamina, es preferible un disolvente mixto de agua y un disolvente orgánico miscible en agua. El disolvente se selecciona de manera apropiada teniendo en cuenta la concentración del polisacárido ácido.

Los disolventes orgánicos miscibles en agua incluyen alcoholes inferiores tales como metanol, etanol, isopropanol, n-propanol y butanol terciario, éteres de glicol tales como monometil éter de etilenglicol y monoetil éter de etilenglicol, acetona, 1,4-dioxano, tetrahydrofurano y acetonitrilo, pero no están particularmente limitados. De estos, son preferibles metanol, etanol, acetona, tetrahydrofurano y 1,4-dioxano. Pueden mezclarse con agua una o dos o más clases de disolventes orgánicos miscibles en agua.

La temperatura en la reacción de reticulación no está particularmente limitada y puede seleccionarse apropiadamente según el tipo de disolvente usado. La temperatura es preferiblemente de 5 a 60°C, y más preferiblemente de 15 a 30°C.

Después de la reacción de reticulación, el líquido de reacción que incluye el producto reticulado se somete a 1) una etapa de agitación o trituración, 2) una etapa de precipitación, 3) una etapa de lavado y 4) una etapa de secado. De esta manera, el polisacárido ácido reticulado final puede obtenerse en forma de polvo seco.

La agitación puede realizarse mediante un método adoptado habitualmente por los expertos en la técnica, y el método de agitación no está particularmente limitado. El método de trituración no está particularmente limitado y puede realizarse usando una espátula o un dispositivo adecuado para la trituración en húmedo. El diámetro medio de partícula del producto triturado puede establecerse de manera apropiada según el tipo de uso médico del polisacárido ácido reticulado final o dependiendo del tipo de dispositivo de trituración utilizado.

La etapa de precipitación, la etapa de lavado y la etapa de secado pueden realizarse mediante métodos adoptados habitualmente por los expertos en la técnica y no están particularmente limitados.

En la reacción de reticulación, el método de amidación, el disolvente de reacción, la concentración del polisacárido ácido, la estructura del agente de reticulación de diamina y el equivalente del agente de reticulación alimentado pueden seleccionarse adecuadamente según el tipo de polisacárido ácido usado y las características deseadas de los materiales médicos.

Razón de reticulación

La razón de reticulación del polisacárido ácido reticulado obtenido mediante el método descrito anteriormente se define por la fórmula general (A) a continuación:

[Fórm. mat. 1]

$$\frac{\text{Número de moles de agente de reticulación de diamina cuyos grupos amino en ambos extremos se unen a un polisacárido ácido (mol)}}{\text{Número de moles de todo -COR en el polisacárido ácido reticulado (mol)}} \times 100 (\%) \quad (A)$$

(En la fórmula anterior, R indica un agente de reticulación de -OH, -ONa, o NH.)

Tensión física de polisacáridos ácidos reticulados hinchados

5 El término polisacárido ácido reticulado hinchado indica que el polisacárido ácido reticulado ha absorbido agua y se ha hinchado. Además, el término tensión física usado en la invención significa la fuerza de resistencia que se produce dentro del polisacárido ácido reticulado hinchado en respuesta a una fuerza externa. La magnitud de la tensión se define como la magnitud de la fuerza interna que actúa sobre el área unitaria.

10 La tensión física de los polisacáridos ácidos reticulados hinchados no está particularmente limitada y se selecciona de manera apropiada según el tipo de uso médico de los materiales. La tensión física puede controlarse fácilmente manipulando el tipo de agente de reticulación de diamina, el equivalente del agente de reticulación de diamina alimentado, el tipo de polisacárido ácido o la concentración del polisacárido ácido reticulado, o mediante la adición de una sal farmacéuticamente aceptable.

Concentración de hinchamiento de equilibrio de polisacáridos ácidos reticulados

20 En la invención, la concentración de hinchamiento de equilibrio significa la concentración a la cual la absorción de agua por un polvo del polisacárido ácido reticulado alcanza un estado de equilibrio. Específicamente, esta concentración puede calcularse permitiendo que un polvo del polisacárido ácido reticulado permanezca en un filtro en contacto con solución salina durante 3 días y determinando el peso del polisacárido ácido reticulado que se ha hinchado al absorber la solución salina.

Condiciones de formulación

25 Los polisacáridos ácidos reticulados de la invención preparados mediante el método descrito anteriormente en el presente documento pueden procesarse apropiadamente según el tipo de uso médico, en la forma o formulación deseada. Específicamente, la forma o formulación es preferiblemente un material hinchado o una suspensión que usa un disolvente médicamente aceptable, o un polvo o gránulos. Las formulaciones pueden contener aditivos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Métodos de esterilización

35 Los métodos para la esterilización de los polisacáridos ácidos reticulados de la invención para uso médico no están particularmente limitados y pueden seleccionarse de manera apropiada según el propósito del uso médico, las condiciones de formulación y el tipo del dispositivo de administración. Los ejemplos específicos incluyen la esterilización EOG, la esterilización por radiación y la esterilización por calor húmedo (vapor a alta presión), siendo preferible la esterilización por radiación y la esterilización por calor húmedo.

Materiales médicos

40 Los polisacáridos ácidos reticulados de la invención pueden usarse como diversos materiales médicos, y los ejemplos de tales materiales médicos incluyen materiales de relleno de tejido y materiales que impiden la adhesión. El tipo de polisacárido ácido, la concentración del polisacárido ácido durante la reacción, y la estructura y el equivalente del agente de reticulación de diamina pueden seleccionarse de manera apropiada según el tipo de aplicación de uso.

Materiales de relleno tisular

50 En la invención, algunos de los campos a los que se aplican los materiales de relleno tisular son los siguientes:

(1) Áreas urológicas

Incontinencia urinaria de esfuerzo (IUE) y reflujo vesicoureteral (RVU)

55 Cuando se usa como material de relleno tisular en áreas urológicas, el polisacárido ácido reticulado de la invención puede administrarse en un cuerpo en forma de, por ejemplo, polvo o material hinchado con un disolvente. El disolvente usado para el hinchamiento es preferiblemente solución salina, tampón fosfato o similar que contiene una sal farmacéuticamente aceptable. La concentración del producto reticulado administrado como un material de relleno tisular puede determinarse de manera apropiada según el rendimiento deseado del material de relleno tisular, y el material puede administrarse mediante un método habitual.

Materiales que impiden la adhesión

65 En la invención, algunos de los campos a los que se aplican los materiales que impiden la adhesión son los siguientes:

(1) Áreas obstétricas y ginecológicas

Los materiales pueden aplicarse para impedir adherencias asociadas con, por ejemplo, operación pélvica durante el tratamiento de infertilidad, operación del útero, operación tubárica, operación de ovario, operación de tratamiento de endometriosis, cesárea y adhesiolisis pélvica.

Cuando se usa como material que impide la adhesión en áreas obstétricas y ginecológicas, el polisacárido ácido reticulado de la invención puede aplicarse a una herida quirúrgica en forma de, por ejemplo, polvo.

(2) Áreas de cirugía digestiva

Los materiales pueden aplicarse para impedir adherencias asociadas con, por ejemplo, adherencias intestinales después de la operación abdominal.

Cuando se usa como material que impide la adhesión en áreas quirúrgicas digestivas, el polisacárido ácido reticulado de la invención puede aplicarse a una herida quirúrgica en forma de, por ejemplo, polvo.

(3) Áreas ortopédicas

Los materiales pueden aplicarse para impedir adherencias asociadas con, por ejemplo, la operación del tendón de Aquiles, la operación del tendón flexor, la artroplastia y la laminectomía.

Cuando se usa como material que impide la adhesión en áreas ortopédicas, el polisacárido ácido reticulado de la invención puede aplicarse a una herida quirúrgica en forma de, por ejemplo, polvo.

Tiempo de desintegración de polisacáridos ácidos reticulados

El tiempo de desintegración de los polisacáridos ácidos reticulados en organismos vivos no está particularmente limitado y puede seleccionarse de manera apropiada según el tipo de uso médico. El periodo es preferiblemente de 1 semana a 2 años, y más preferiblemente de 1 semana a 1 año. Específicamente, cuando el polisacárido ácido reticulado se usa como material que impide la adhesión, el tiempo de desintegración del mismo en organismos vivos es preferiblemente de 3 días a 6 semanas, y más preferiblemente de 3 días a 4 semanas. Cuando se usa como material de relleno tisular, el tiempo de desintegración del polisacárido ácido reticulado en organismos vivos es preferiblemente de 2 a 48 semanas, y más preferiblemente de 4 a 24 semanas. El tiempo de desintegración puede controlarse fácilmente seleccionando de manera apropiada la estructura del agente de reticulación de diamina.

Ejemplos

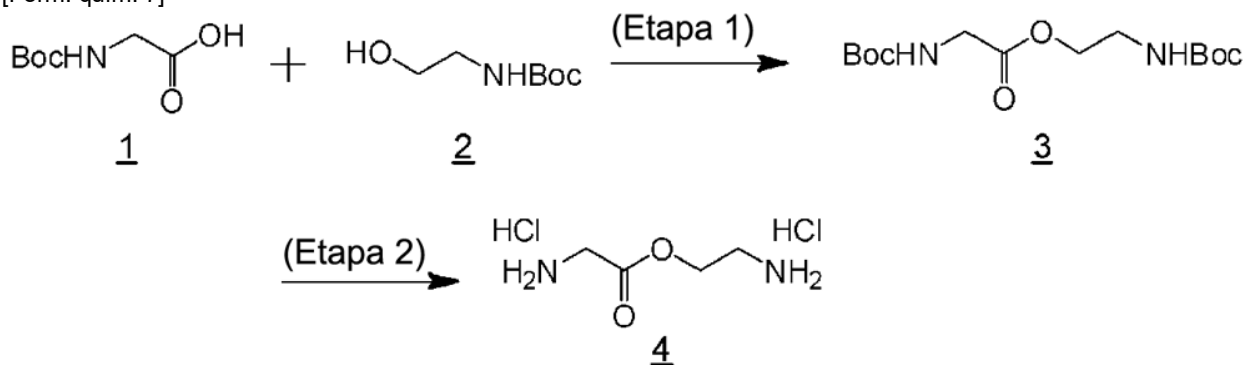
A continuación en el presente documento, la presente invención se describirá en detalle presentando ejemplos, ejemplos de referencia y ejemplos de prueba. A menos que se mencione lo contrario, “%” es en una base en masa.

Ejemplo de referencia 1

Síntesis de diclorhidrato de 2-aminoetil-2-aminoacetato (GlyC2N) (compuesto 4)

El compuesto 4 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 7]



El compuesto 2 se adquirió de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.

(Etapa 1)

Se disolvió Boc-etanolamina (compuesto 2) (2,65 g, 16,4 mmol) en diclorometano (15 ml), y se añadió Boc-glicina

(compuesto 1) (2,97 g, 16,9 mmol). Mientras se realizaba el enfriamiento con hielo, se añadieron N,N-dimetil-4-aminopiridina (DMAP) (482 mg, 3,95 mmol) y clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI) (3,97 g, 20,7 mmol) a la disolución. Se agitó la mezcla durante 13 horas a temperatura ambiente. Se concentró a vacío el líquido de reacción, y se añadió acetato de etilo (600 ml) al residuo. Se lavó secuencialmente la mezcla con ácido clorhídrico 0,3 N (200 ml), una disolución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio (200 ml) y solución salina saturada (200 ml). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio y después de eso se filtró. Se concentró a vacío el filtrado. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo/hexano = 1/3). Por consiguiente, se obtuvo el compuesto 3 (5,23 g, 16,4 mmol) como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento del 100%).

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ) 1,45-1,46(18H, m, Boc $\times$ 2), 3,40-3,41(2H, m, CH_2), 3,92(2H, d, $J=6\text{Hz}$, CH_2), 4,22(2H, t, $J=6\text{Hz}$), 4,85(1H, sa, NH), 5,04(1H, sa, NH)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 319,2; encontrado 319,2

(Etapa 2)

En un baño de hielo, se añadió cloruro de hidrógeno 4 N/1,4-dioxano (30 ml) al compuesto 3 (3,00 g, 9,42 mmol). a temperatura ambiente, se agitó la mezcla durante 2 horas. Se añadió dietil éter (150 ml) al líquido de reacción, y se precipitó un sólido blanco. Se retiró el sobrenadante, y se lavó el precipitado con dietil éter (200 ml) cinco veces. Se secó a vacío el precipitado. Por tanto, se obtuvo el compuesto del título 4 (1,55 g, 8,13 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 86%).

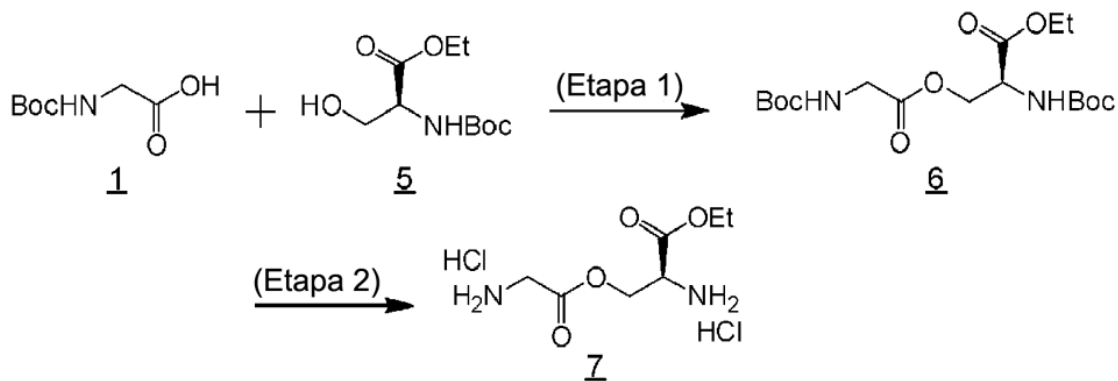
$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, DMSO-d_6 , δ) 3,10(2H, sa, CH_2), 3,85(2H, s, CH_2), 4,39(2H, q, $J=2\text{Hz}$), 8,45(3H, sa, NH_3), 8,64(3H, sa, NH_3)

Ejemplo de referencia 2

Síntesis de diclorhidrato de (S)-2-amino-3-(2-aminoacetoxi)propanoato de etilo (GlySerEt)·(compuesto 7)

El compuesto 7 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 8]



El compuesto 5 se sintetizó por el método descrito en Biochemical Pharmacology, 2006, 71 (3), 268-277.

(Etapa 1)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 5, se obtuvo el compuesto 6 (5,12 g, 13,1 mmol) a partir del compuesto 5 (3,38 g, 14,5 mmol) y el compuesto 1 (2,54 g, 14,5 mmol) como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento del 90%).

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, CDCl_3 , δ) 1,29(3H, t, 7Hz, CH_2CH_3), 1,45(18H, m, Boc $\times$ 2), 3,91(2H, d, $J=6\text{Hz}$), 4,23(2H, dd, $J=15\text{Hz}$, 7Hz, CH_2CH_3), 4,44-4,50(2H, m, CH_2), 4,55-4,58(1H, m, CH), 4,99(1H, sa, NH), 5,33(1H, m, NH)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 391,2; encontrado 391,2

(Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) excepto que el compuesto 3 usado en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 6, se obtuvo el compuesto del título 7 (3,45 g, 13,1 mmol) a partir del Compuesto 6 (5,12 g, 13,1 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 100%).

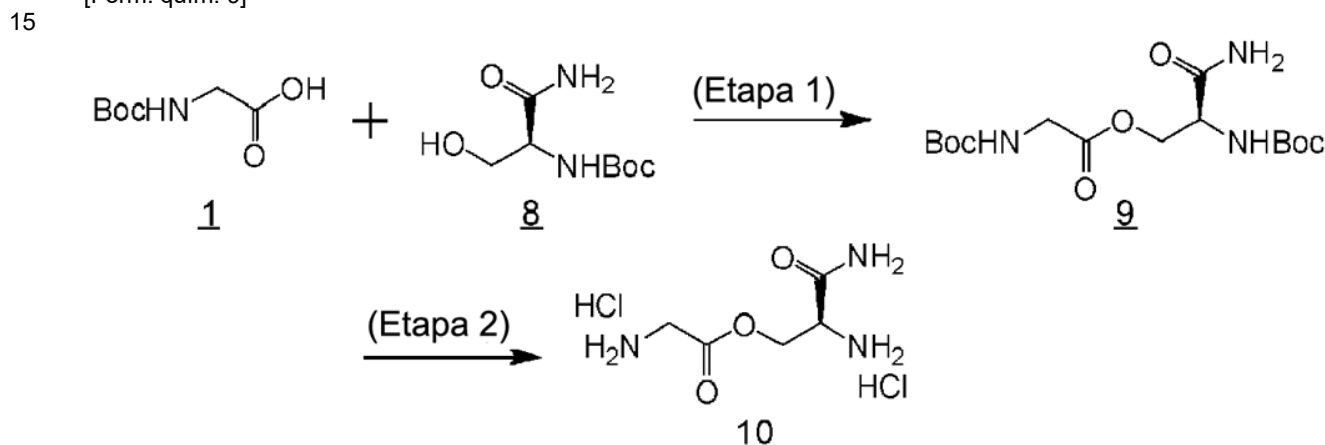
- 5 ^1H -RMN(500MHz,DMSO- d_6 , δ) 1,25(3H, t, 7Hz, CH_2CH_3), 3,83(2H, dd, 30Hz, 18Hz, CH_2), 4,24(2H, dd, 14Hz, 7Hz, CH_2CH_3), 4,49-4,55(2H, m, CH_2), 4,66(1H, dd, 12Hz, 3Hz, CH), 8,74(3H, sa, NH_3), 9,07(3H, sa, NH_3)

Ejemplo de referencia 3

10 Síntesis de diclorhidrato de 2-aminoacetato de (S)-2,3-diamino-3-oxopropilo (GlySerNH₂)·(compuesto 10)

El compuesto 10 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 9]



El compuesto 8 se sintetizó por el método descrito en Synthetic Communications, 1989, 19 (9-10), 1603-9.

20 (Etapa 1)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 8, se obtuvo el compuesto 9 (1,09 g, 3,02 mmol) a partir del compuesto 8 (651 mg, 3,19 mmol) y el compuesto 1 (615 mg, 3,51 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 95%).

- 25 ^1H -RMN(500MHz, CDCl_3 , δ) 1,45-1,46(18H, m, Boc $\times 2$), 3,85-3,94(2H, m, CH_2), 4,39-4,48(3H, m, CH_2 , CH), 5,09(1H, sa, NH), 5,45(1H, sa, NH), 5,57(1H, sa, NH_2), 6,42(1H, sa, NH_2)

- 30 ESI-EM: calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 362,2; encontrado 362,3

(Etapa 2)

- 35 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) excepto que el compuesto 3 usado en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 9, se obtuvo el compuesto del título 10 (654 mg, 2,80 mmol) a partir del compuesto 9 (1,09 g, 3,02 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 92%).

- 40 ^1H -RMN(500MHz,DMSO- d_6 , δ) 3,81(1H, d, $J=17\text{Hz}$, CH_2), 3,85(1H, d, $J=17\text{Hz}$, CH_2), 4,13(1H, dd, $J=6\text{Hz}$, 4Hz, CH), 4,50(1H, dd, $J=12\text{Hz}$, 6Hz, CH_2), 4,57(1H, dd, $J=12\text{Hz}$, 4Hz, CH_2), 7,70(1H, sa, NH_2), 8,15(1H, sa, NH_2), 8,55(6H, sa, $\text{NH}_3\times 2$)

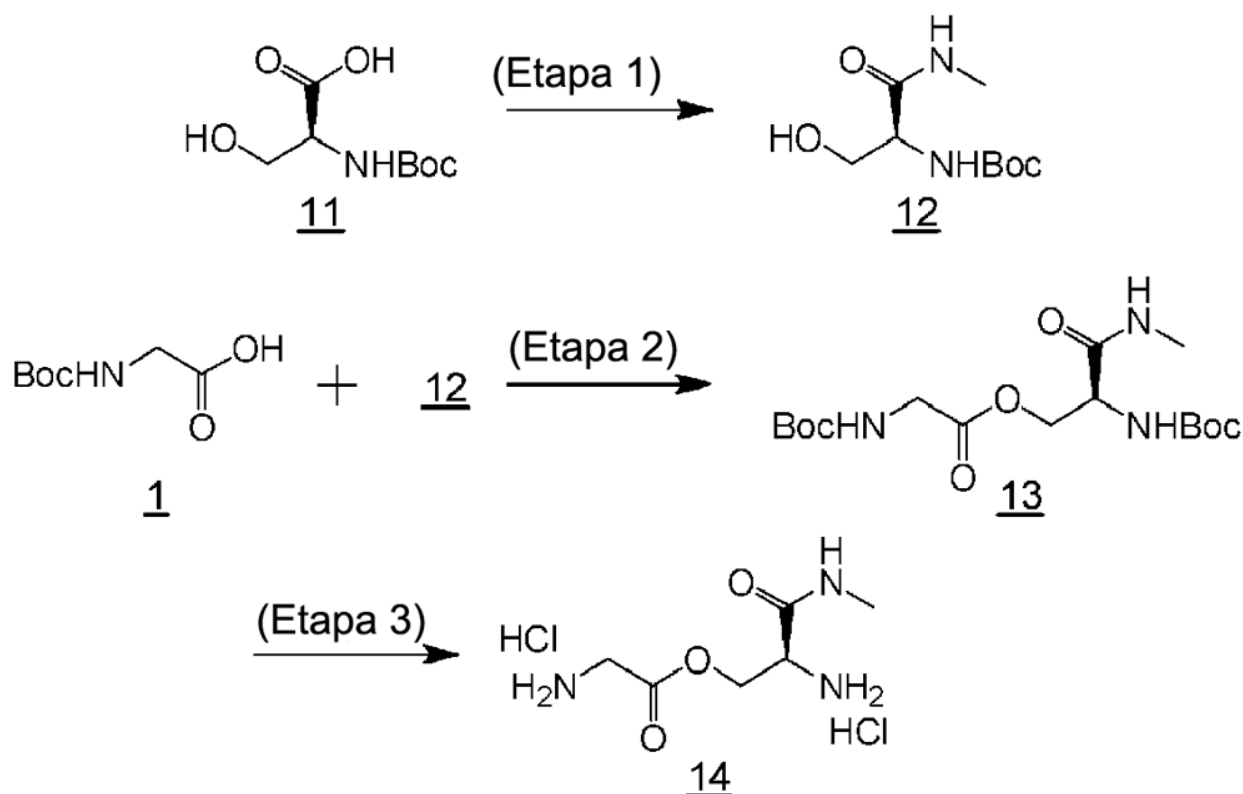
ESI-EM: calc. para $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{2M}+\text{H}]^+$ 323,2; encontrado 323,2

Ejemplo de referencia 4

- 45 Síntesis de diclorhidrato de 2-aminoacetato de (S)-2-amino-3-(metilamino)-3-oxipropilo (GlySerNHMe)·(compuesto 14)

El compuesto 14 se sintetizó de la siguiente manera.

- 50 [Fórm. quím. 10]



(Etapa 1)

- 5 Se disolvió Boc-serina (compuesto 11) (1,00 g, 4,87 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (30 ml). A temperatura ambiente, se añadieron una disolución acuosa de metilamina 12 M (0,60 ml, 7,20 mmol) y cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio N hidratado (DMT-MM) (2,70 g, 9,74 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió agua, y se realizó la extracción con acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica con solución salina saturada, se secó con sulfato de sodio, y se filtró. Se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de etilo:metanol = de 1:0 a 9:1). Por tanto, se obtuvo el compuesto 12 (1,00 g, 4,59 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 94%).

¹H-RMN(500MHz,CDCl₃,δ) 1,46(9H, s, Boc), 2,83(3H, d, 4,9Hz, CH₃), 3,65(1H, m, CH), 4,10-4,15(2H, m, CH₂), 5,56(1H, sa, NH), 6,67(1H, sa, NH)

ESI-EM: calc. para C₉H₁₈N₂O₄ [M+H]⁺, 219,1; encontrado 219,2

(Etapa 2)

- 20 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 12, se obtuvo el compuesto 13 (1,18 g, 3,15 mmol) a partir del compuesto 12 (810 mg, 3,71 mmol) y el compuesto 1 (716 mg, 4,09 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 85%).

25 ¹H-RMN(500MHz,CDCl₃,δ) 1,46(18H, m, Boc×2), 2,84(3H, d, 4,9Hz, CH₃), 3,87-3,89(2H, m, CH₂), 4,35-4,46(3H, m, CH₂ y CH), 5,37(1H, sa, NH), 6,38(1H, sa, NH), 7,26(1H, sa, NH)

ESI-EM: calc. para C₁₆H₂₉N₃O₇ [M+H]⁺, 376,2; encontrado 376,3

(Etapa 3)

- 30 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) excepto que el compuesto 3 usado en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 13, se obtuvo el compuesto del título 14 (773 mg, 3,12 mmol) a partir del compuesto 13 (1,18 g, 3,15 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 99%).

35 ¹H-RMN(500MHz,DMSO-d₆,δ) 2,49(3H, d, J=5Hz, CH₃), 3,81(1H, d, J=17Hz, CH₂), 3,86(1H, d, J=17Hz, CH₂), 4,13(1H, dd, J=4Hz, 6Hz, CH), 4,47(1H, dd, J=6Hz 12Hz, CH₂), 4,52(1H, dd, J=4Hz, 12Hz, CH₂), 8,55(6H, sa, NH₃), 8,75(1H, sa, NH)

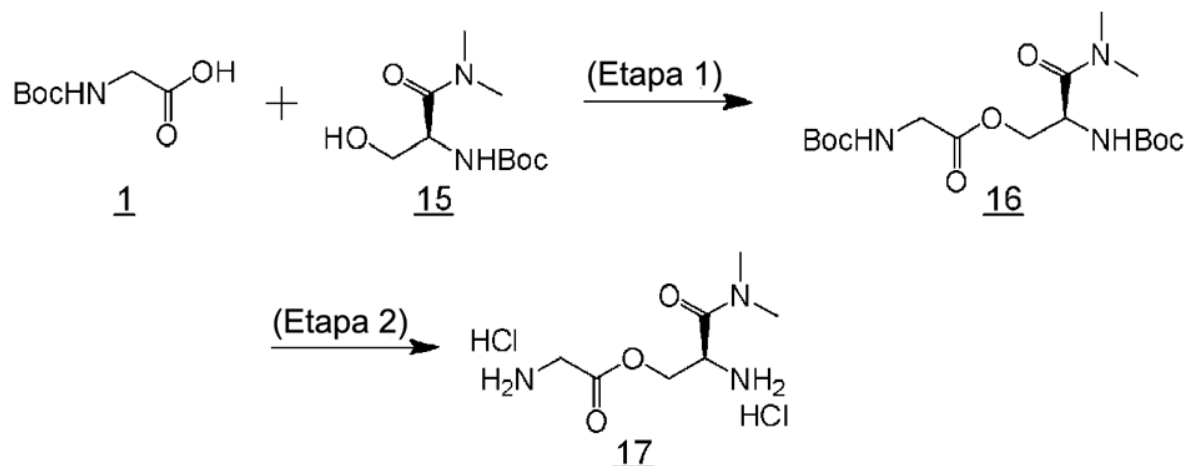
ESI-EM: calc. para $C_6H_{13}N_3O_3$ $[M+H]^+$ 176,1; encontrado 176,1

Ejemplo de referencia 5

Síntesis de diclorhidrato de 2-aminoacetato de (S)-2-amino-3-(dimetilamino)-3-oxipropilo (GlySerNMe₂) (compuesto 17)

El compuesto 17 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 11]



El compuesto 15 se sintetizó por el método descrito en Tetrahedron, 2004, 60 (10), 2247-2257.

(Etapa 1)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 15, se obtuvo el compuesto 16 (858 mg, 2,20 mmol) a partir del compuesto 15 (608 mg, 2,62 mmol) y el compuesto 1 (505 mg, 2,88 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 84%).

¹H-RMN(500MHz,CDCl₃,δ) 1,44-1,45(18H, m, Boc×2), 2,97(3H, s, CH₃), 3,16(3H, s, CH₃), 3,88 (1H, dd, J=5Hz, 18Hz, CH₂), 3,97(1H, dd, 6Hz, 18Hz, CH₂), 4,03(1H, dd, 8Hz, 11Hz, CH₂), 4,41(1H, dd, 4Hz, 11Hz, CH₂), 4,92-4,96(1H, m, CH), 5,05(1H, sa, NH), 5,56(1H, d, J=8Hz, NH), 7,26(1H, sa, NH)

ESI-EM: calc. para $C_{17}H_{31}N_3O_7$ $[M+H]^+$ 390,2; encontrado 390,2

(Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) excepto que el compuesto 3 usado en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 16, se obtuvo el compuesto del título 17 (509 mg, 1,94 mmol) a partir del compuesto 16 (853 mg, 2,19 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 89%).

¹H-RMN(500MHz,DMSO-d₆,δ) 2,93(3H, s, CH₃), 3,12(3H, s, CH₃), 3,81(1H, d, J=17Hz, CH₂), 3,88(1H, d, J=17Hz, CH₂), 4,33(1H, dd, J=7Hz, 12Hz, CH₂), 4,56(1H, dd, 3Hz 12Hz, CH₂), 4,65(1H, dd, J=3Hz, 7Hz, CH₂), 8,54(6H, sa, NH₃×2)

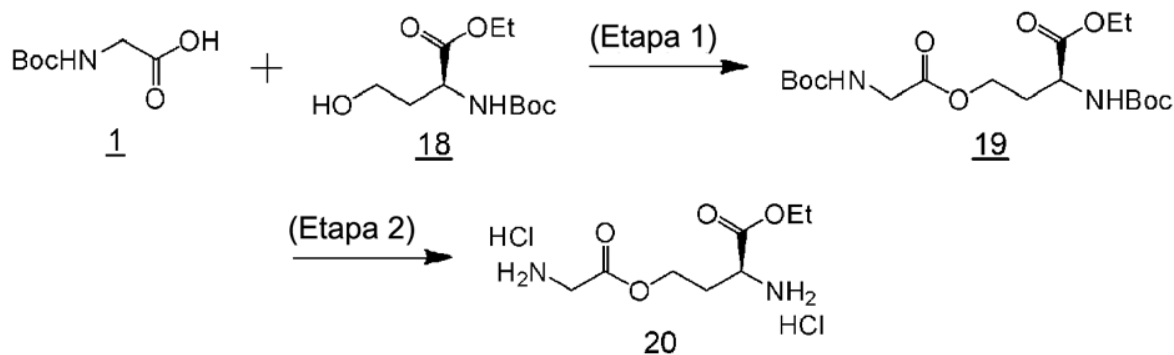
ESI-EM: calc. para $C_7H_{15}N_3O_3$ $[M+H]^+$ 190,1; encontrado 190,1

Ejemplo de referencia 6

Síntesis de diclorhidrato de (S)-2-amino-4-(2-aminoacetoxi)butanoato de etilo (GlyHomoSerEt) (compuesto 20)

El compuesto 20 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 12]



5 El compuesto 18 se sintetizó por el método descrito en Journal of Organic Chemistry, 2008, 73 (8), 3212-3217.

(Etapa 1)

10 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 18, se obtuvo el compuesto 19 (3,59 g, 8,87 mmol) a partir del compuesto 18 (2,19 g, 8,87 mmol) y el compuesto 1 (1,61 g, 9,19 mmol) como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento del 100%).

15 $^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{CDCl}_3, \delta)$ 1,29(3H, t, $J=7\text{Hz}$, CH_2CH_3), 1,44-1,45(18H, m, Boc x2), 2,00-2,08(1H, m, CH), 2,00-2,25(1H, m, CH), 3,85-3,95(2H, m, CH_2), 4,10-4,29(4H, m, CH_2CH_3 , CH_2), 4,35-4,43(1H, m, CH), 4,77-5,16(2H, m, NH)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 405,2; encontrado 405,3

(Etapa 2)

20 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) excepto que el compuesto 3 usado en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 19 y se reemplazó cloruro de hidrógeno 4 N/1,4-dioxano por cloruro de hidrógeno 4 N/acetato de etilo, se obtuvo el compuesto del título 20 (1,32 g, 4,75 mmol) a partir del compuesto 19 (1,92 g, 4,75 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 100%).

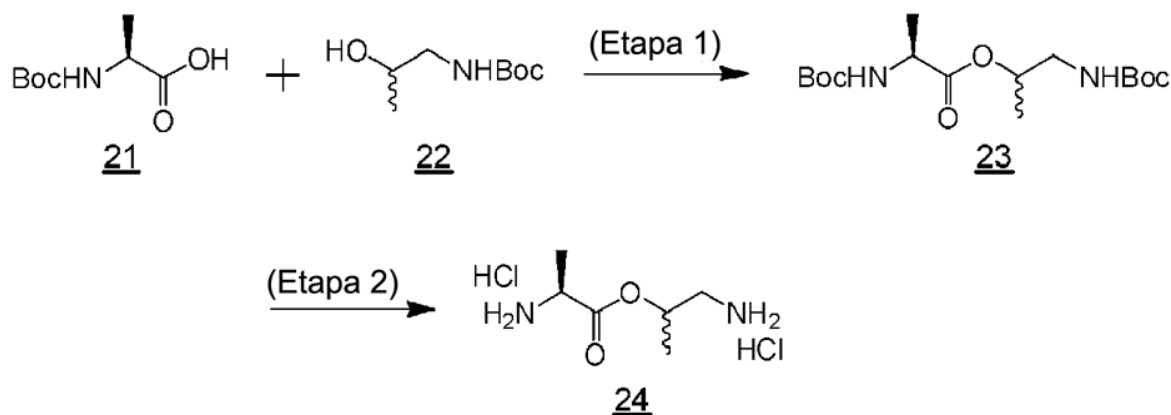
25 $^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{DMSO}-d_6, \delta)$ 1,25(3H, t, $J=7\text{Hz}$, CH_2CH_3), 2,18-2,27(2H, m, CH_2), 3,78(2H, s, CH_2), 4,17-4,26(3H, m, CH_2CH_3 , CH), 4,27-4,31(2H, m, CH_2), 8,72(6H, sa, NH_3 x2)

30 Ejemplo de referencia 7

Síntesis de diclorhidrato de 2-aminopropanoato de (2S)-1-aminopropan-2-ilo (AlaC2MeN)- (compuesto 24)

El compuesto 24 se sintetizó de la siguiente manera.

35 [Fórm. quím. 13]



El compuesto 22 se sintetizó por el método descrito en Journal of Medicinal Chemistry, 2004, 47 (5), 1259-1271.

5 (Etapa 1)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 22, se reemplazó Boc-glicina (compuesto 1) por Boc-L-alanina (compuesto 21) y se añadió adicionalmente trietilamina en 1,09 eq. en relación con el compuesto 22, se obtuvo el compuesto 23 (6,02 g, 17,4 mmol) a partir del compuesto 22 (4,62 g, 26,4 mmol) y el compuesto 21 (5,03 g, 26,4 mmol) como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento del 66%).

^1H -RMN(500MHz, CDCl_3 , 55°C, δ) 1,23(3H, t, J=7Hz, CH_3), 1,37(3H, t, J=8Hz, CH_3), 1,43(9H, s, Boc), 1,45(9H, s, Boc), 3,17-3,23(1H, m), 3,36(1H, sa), 4,20-4,22(1H, m), 4,78(1H, sa), 4,99(1H, sa), 5,00-5,02(1H, m)

15 (Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) excepto que el compuesto 3 usado en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 23, se obtuvo el compuesto del título 24 (1,33 g, 6,09 mmol) a partir del compuesto 23 (2,11 g, 6,09 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 100%).

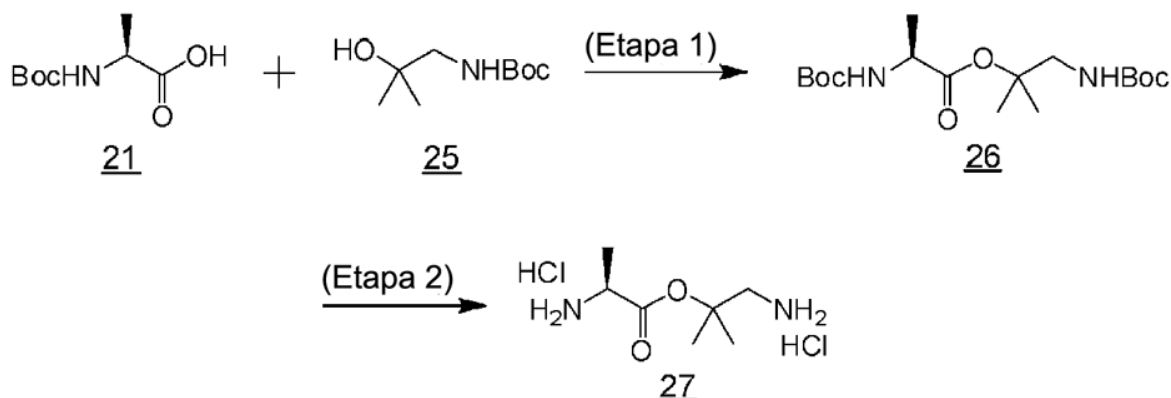
^1H -RMN(500MHz, DMSO- d_6 , δ) 1,28(3H, dd, J=1Hz, 7Hz, CH_3), 1,46(3H, d, J=8Hz, CH_3), 2,98-3,03(1H, dd, J=9Hz, 14Hz), 3,12(1H, dd, J=2Hz, 14Hz), 3,33(1H, sa), 4,05(0,5H, q, J=8Hz), 4,16(0,5H, q, J=8Hz), 5,09(1H, q, J=7Hz), 8,54(6H, sa, NH_3^{3+})

25 Ejemplo de referencia 8

Síntesis de diclorhidrato de 2-aminopropanoato de (S)-1-amino-2-metilpropan-2-ilo (AlaC2Me2N) (compuesto 27)

30 El compuesto 27 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 14]



El compuesto 25 se sintetizó por el método descrito en Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2006, 253 (1-2), 198-202.

(Etapa 1)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 7 (etapa 1) excepto que el compuesto 22 usado en el ejemplo de referencia 7 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 25, se obtuvo el compuesto 26 (4,72 g, 13,1 mmol) a partir del compuesto 25 (4,70 g, 24,8 mmol) y el compuesto 21 (4,71 g, 24,9 mmol) como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento del 47%).

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, CDCl_3 , 55°C, δ) 1,34(3H, d, $J=8\text{Hz}$, CH_3), 1,43(6H, s, $\text{CH}_3 \times 2$), 1,44(18H, s, $\text{Boc} \times 2$), 3,41(2H, d, $J=5\text{Hz}$, CH_2), 4,12(1H, q, $J=8\text{Hz}$, CH), 4,88(1H, sa, NH), 5,11(1H, sa, NH)

(Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) excepto que el compuesto 3 usado en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 26, se obtuvo el compuesto del título 27 (651 mg, 2,79 mmol) a partir del compuesto 26 (1,01 g, 2,80 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 100%).

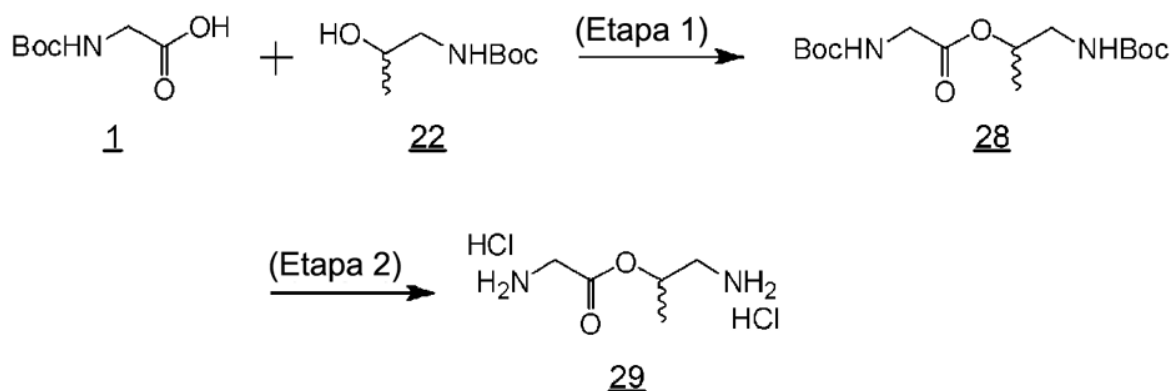
$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, DMSO-d_6 , δ) 1,43(3H, d, $J=7\text{Hz}$, CH_3), 1,54(3H, s, CH_3), 1,56(3H, s, CH_3), 3,08-3,16(2H, m, CH_2), 4,01(1H, sa, CH), 8,51(3H, sa, NH_3), 8,75(3H, sa, NH_3)

Ejemplo de referencia 9

Síntesis de diclorhidrato 2-aminoacetato de 1-aminopropan-2-ilo (GlyC2MeN) (compuesto 29)

El compuesto 29 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 15]



El compuesto 22 se sintetizó por el método descrito en Journal of Medicinal Chemistry, 2004, 47 (5), 1259-1271.

5 (Etapa 1)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 22 y se añadió adicionalmente trietilamina en 1,11 eq. en relación con el compuesto 22, se obtuvo el compuesto 28 (4,45 g, 13,4 mmol) a partir del compuesto 22 (5,41 g, 28,5 mmol) y el compuesto 1 (5,02 g, 28,5 mmol) como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento del 47%).

¹H-RMN(500MHz,CDCl₃,55°C,δ) 1,24(3H, d, J=7Hz, CH₃), 1,44(9H, s, Boc), 1,46(9H, s, Boc), 3,16-3,21(1H, m, CH), 3,35(1H, sa, CH), 3,86(2H, d, J=6Hz, CH₂), 4,75(1H, sa, NH), 4,94(1H, sa, NH), 5,02(1H, q, J=7Hz, CH)

15 (Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) excepto que el compuesto 3 usado en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 28, se obtuvo el compuesto del título 29 (2,41 g, 11,8 mmol) a partir del compuesto 28 (4,11 g, 12,4 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 95%).

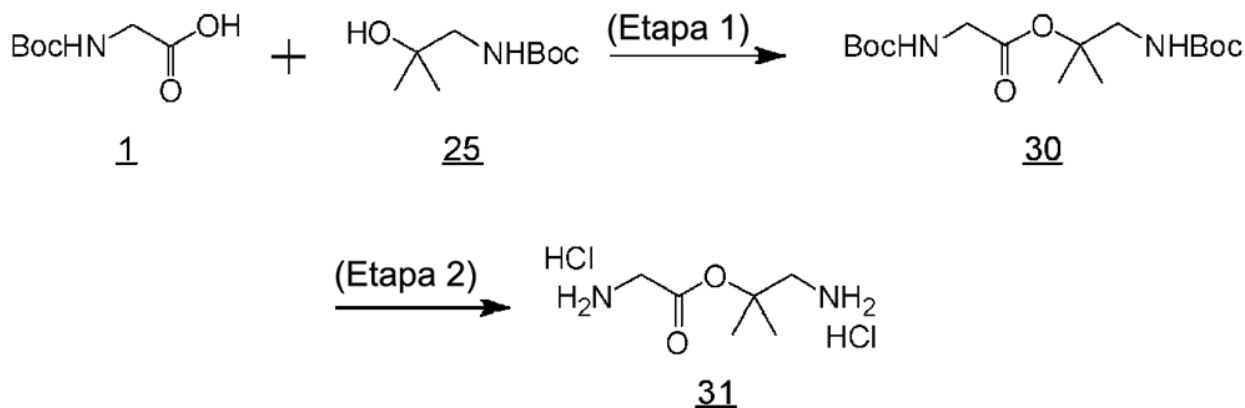
¹H-RMN(500MHz,DMSO-d₆,δ) 1,29(3H, d, J=7Hz, CH₃), 3,00(1H, dd, J=9Hz,13Hz, CH), 3,10(1H, d, J=13Hz, CH), 3,78(1H, d, J=17Hz, CH), 3,92(1H, d, J=17Hz, CH), 5,09-5,13(1H, m, CH), 8,39(3H, sa, NH₃), 8,53(3H, sa, NH₃)

25 Ejemplo de referencia 10

Síntesis de diclorhidrato de 2-aminoacetato de 1-amino-2-metilpropan-2-ilo (GlyC2Me2N) (compuesto 31)

El compuesto 31 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 16]



El compuesto 25 se sintetizó por el método descrito en Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, 2006, 253 (1-2),

198-202.

(Etapa 1)

- 5 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 25 y se añadió adicionalmente trietilamina en 1,10 eq. en relación con el compuesto 25, se obtuvo el compuesto 30 (655 mg, 1,89 mmol) a partir del compuesto 25 (2,71 g, 14,3 mmol) y el compuesto 1 (2,52 g, 14,4 mmol) como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento del 13%).

10 $^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{CDCl}_3, 55^\circ\text{C}, \delta)$ 1,45(18H, s, Boc $\times$ 2), 1,53(6H, s, CH $_3$ $\times$ 2), 3,38(2H, t, J=8Hz, CH $_2$), 3,78(1H, d, J=6Hz, CH), 4,46(1H, d, J=6Hz, CH), 4,95(1H, sa, NH), 5,17(1H, sa, NH)

(Etapa 2)

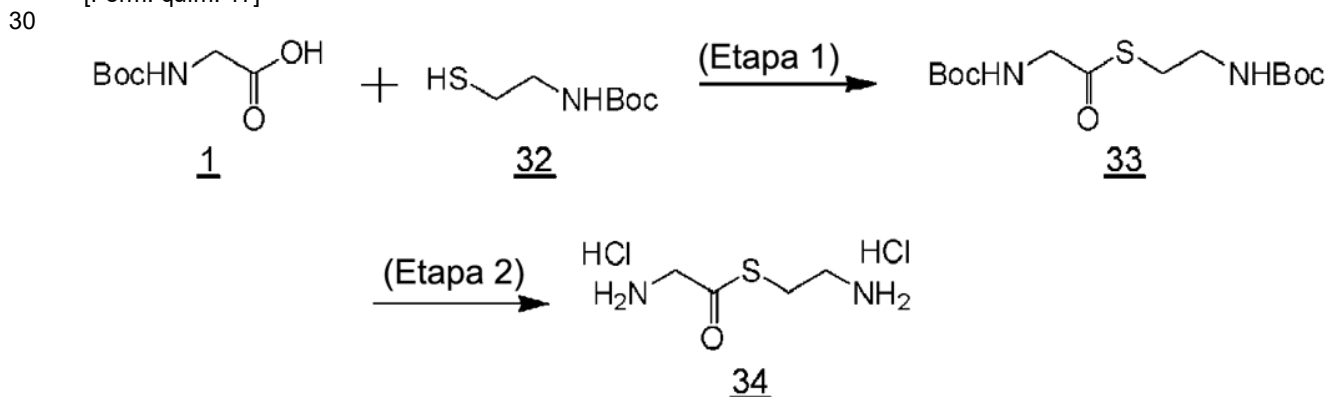
- 15 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) excepto que el compuesto 3 usado en el ejemplo de referencia 1 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 30, se obtuvo el compuesto del título 31 (400 mg, 1,83 mmol) a partir del compuesto 30 (655 mg, 1,89 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 97%).

20 $^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{DMSO}-d_6, \delta)$ 1,53(3H, s, CH $_3$), 1,57(3H, s, CH $_3$), 3,10(1H, s, CH), 3,13(1H, s, CH), 3,74(1H, s, CH), 3,96(1H, d, J=6Hz, CH), 8,43(3H, sa, NH $_3$), 8,50(3H, sa, NH $_3$)

Ejemplo de referencia 1125 Síntesis de diclorhidrato de 2-aminoetanotioato de S-(2-aminoetilo) (GlySC2N) (compuesto 34)

El compuesto 34 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 17]



El compuesto 32 se adquirió de Aldrich.

(Etapa 1)

- 35 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 32, se reemplazó EDCI por 1,20 eq. de cloruro bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfínico (BOP-Cl) en relación con el compuesto 32 y se añadió adicionalmente trietilamina en 2,40 eq. en relación con el compuesto 32, se obtuvo el compuesto 33 (3,78 g, 11,3 mmol) a partir del compuesto 32 (2,00 g, 11,3 mmol) y el compuesto 1 (2,17 g, 12,4 mmol) como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento del 100%).

45 $^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{CDCl}_3, \delta)$ 1,44-1,47(18H, m, Boc $\times$ 2), 3,03-3,07(2H, m, CH $_2$), 3,30-3,31(2H, m, CH $_2$), 4,05(2H, d, J=6Hz, CH $_2$), 4,82(1H, sa, NH), 5,12-5,22(1H, m, NH)

ESI-EM: calc. para C $_{14}$ H $_{26}$ N $_2$ O $_5$ S [M+H] $^+$, 335,2; encontrado 335,2

(Etapa 2)

- 50 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 33, se obtuvo el compuesto del título 34 (821 mg, 3,96 mmol) a partir del compuesto 33 (1,36 g, 4,07 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 97%).

^1H -RMN(500MHz,DMSO- d_6 , δ) 2,97-3,00(2H, m, CH_2), 3,25(2H, t, $J=7\text{Hz}$, CH_2), 4,09(2H, sa, CH_2), 8,37(3H, sa, NH_3), 8,60(3H, sa, H_3N)

5 ESI-EM: calc. para $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 135,1; encontrado 135,1

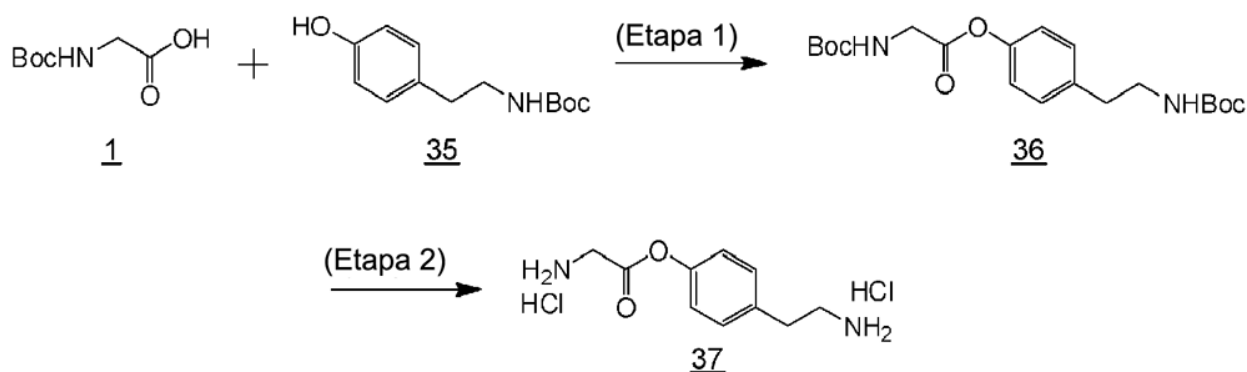
Ejemplo de referencia 12

Síntesis de diclorhidrato de 2-aminoacetato de 4-(2-aminoetil)fenilo (GlyPhC2N) (compuesto 37)

10

El compuesto 37 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 18]



15

El compuesto 35 se adquirió de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.

(Etapa 1)

20

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por N-Boc-tiramina (compuesto 35) y se reemplazó diclorometano por N,N-dimetilformamida, se obtuvo el compuesto 36 (3,30 g, 8,37 mmol) a partir del compuesto 35 (2,00 g, 8,43 mmol) y el compuesto 1 (1,62 g, 9,26 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 99%).

25

^1H -RMN(500MHz, CDCl_3 , δ) 1,44(9H, s, Boc), 1,47(9H, s, Boc), 2,70-2,81(2H, m, CH_2), 3,36-3,73(2H, m, CH_2), 4,16-4,17(2H, m, CH_2), 4,55(1H, sa, NH), 5,08(1H, sa, NH), 7,04(2H, d, $J=9\text{Hz}$, Ph), 7,20(2H, d, $J=9\text{Hz}$, Ph)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 412,2; encontrado 412,3

30

(Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 36, se obtuvo el compuesto del título 37 (674 mg, 2,52 mmol) a partir del compuesto 36 (996 mg, 2,52 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 100%).

35

^1H -RMN(500MHz,DMSO- d_6 , δ) 2,92-2,95(2H, m, CH_2), 3,02-3,05(2H, m, CH_2), 4,07(2H, s, CH_2), 7,14-7,17(2H, m, Ph), 7,35-7,38(2H, m, Ph), 8,25-8,61(6H, m, $\text{NH}_3 \times 2$)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 195,1; encontrado 195,2

40

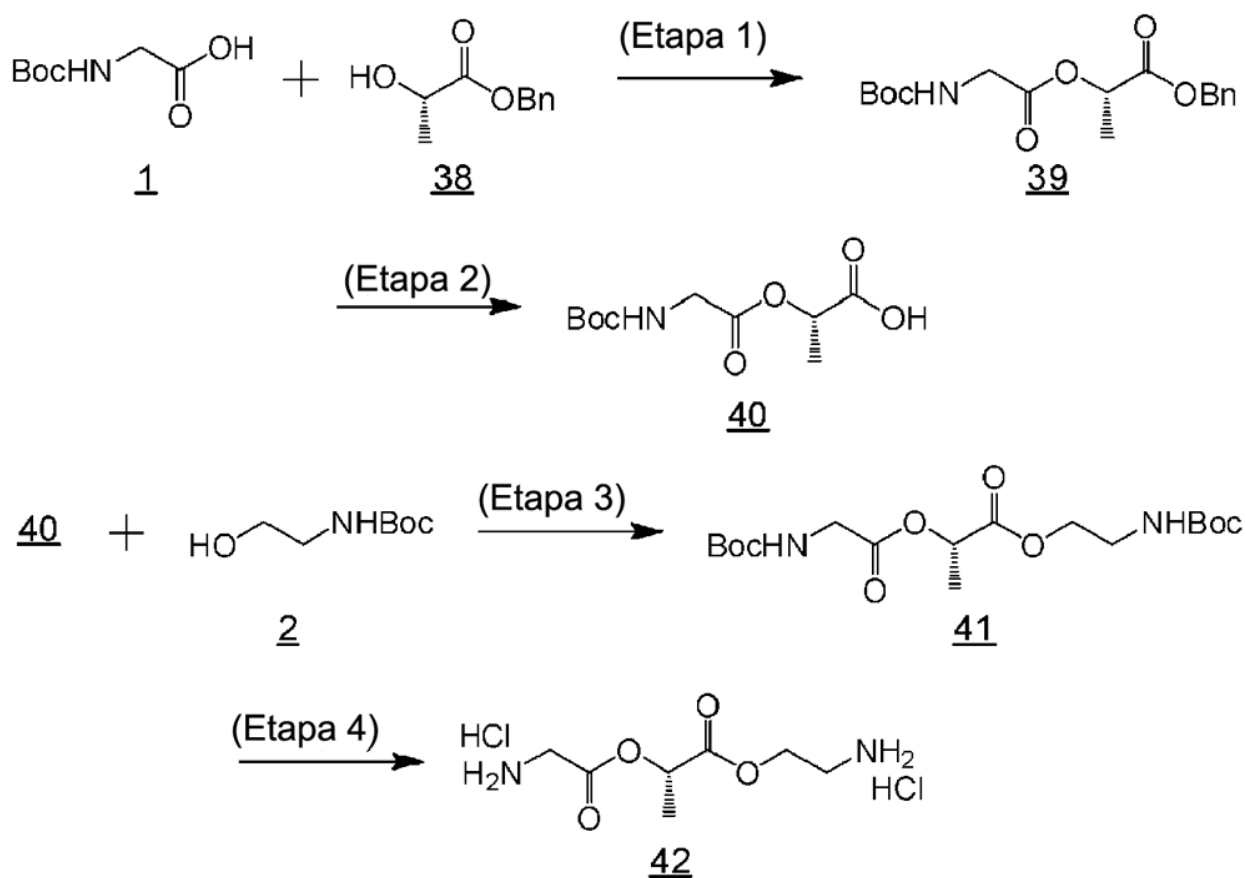
Ejemplo de referencia 13

Síntesis de diclorhidrato 2-(2-aminoacetoxi)propanoato de (S)-2-aminoetilo (GliIacC2N) (compuesto 42)

45

El compuesto 42 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 19]



El compuesto 38 se adquirió de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.

5 (Etapa 1)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina (compuesto 2) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 38, se obtuvo el compuesto 39 (8,60 g, 25,5 mmol) a partir del compuesto 38 (5,00 g, 27,8 mmol) y el Compuesto 1 (5,10 g, 29,1 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 92%).

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, CDCl_3 , δ) 1,45(9H, s, Boc), 1,51-1,52(3H, m, CH_3), 3,92-4,08(2H, m, CH_2), 4,98(1H, sa, NH), 5,15-5,23(3H, m, CH_2 , CH), 7,32-7,39(5H, m, Ph)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_6$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 355,2; encontrado 355,2

(Etapas 2 y 3)

Se disolvió el compuesto 39 (4,60 g, 13,6 mmol) en acetato de etilo (EtOAc) (50 ml), y se añadió paladio al 10%/carbono (Pd/C) (232 mg, el 5,05% en peso). Bajo una atmósfera de hidrógeno, se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Se filtró el líquido de reacción, y se concentró a vacío el filtrado. Por tanto, se obtuvo el compuesto 40 bruto (3,82 g) como un líquido viscoso transparente incoloro.

Posteriormente, de sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-glicina (compuesto 1) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 40, se obtuvo el compuesto 41 (3,82 g, 9,78 mmol) a partir de todo el compuesto 40 bruto y el compuesto 2 (2,20 g, 13,7 mmol) como un sólido blanco (rendimiento en 2 etapas: 72%).

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, CDCl_3 , δ) 1,45(18H, s, $\text{Boc}\times 2$), 1,52-1,53(3H, m, CH_3), 3,37-3,41(2H, m, CH_2), 3,92-4,06(2H, m, CH_2), 4,15-4,27(2H, m, CH_2), 5,04(2H, sa, $\text{NH}\times 2$), 5,12(1H, dd, $J=14\text{Hz}$, 7Hz, CH)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 391,2; encontrado 391,3

(Etapa 4)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 41, se obtuvo el compuesto del título 42 (645 mg, 2,45 mmol) a partir del compuesto 41 (1,01 g, 2,58 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 95%).

- 5 $^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{DMSO}-d_6, \delta)$ 1,51(3H, d, $J=7\text{Hz}$, CH_3), 3,11(2H, t, $J=5\text{Hz}$, CH_2), 3,86-3,97(2H, s, CH_2), 4,29-4,32(2H, m, CH_2), 5,24(1H, dd, $J=14\text{Hz}$, 7Hz, CH), 8,50(6H, sa, $\text{NH}_3 \times 2$)

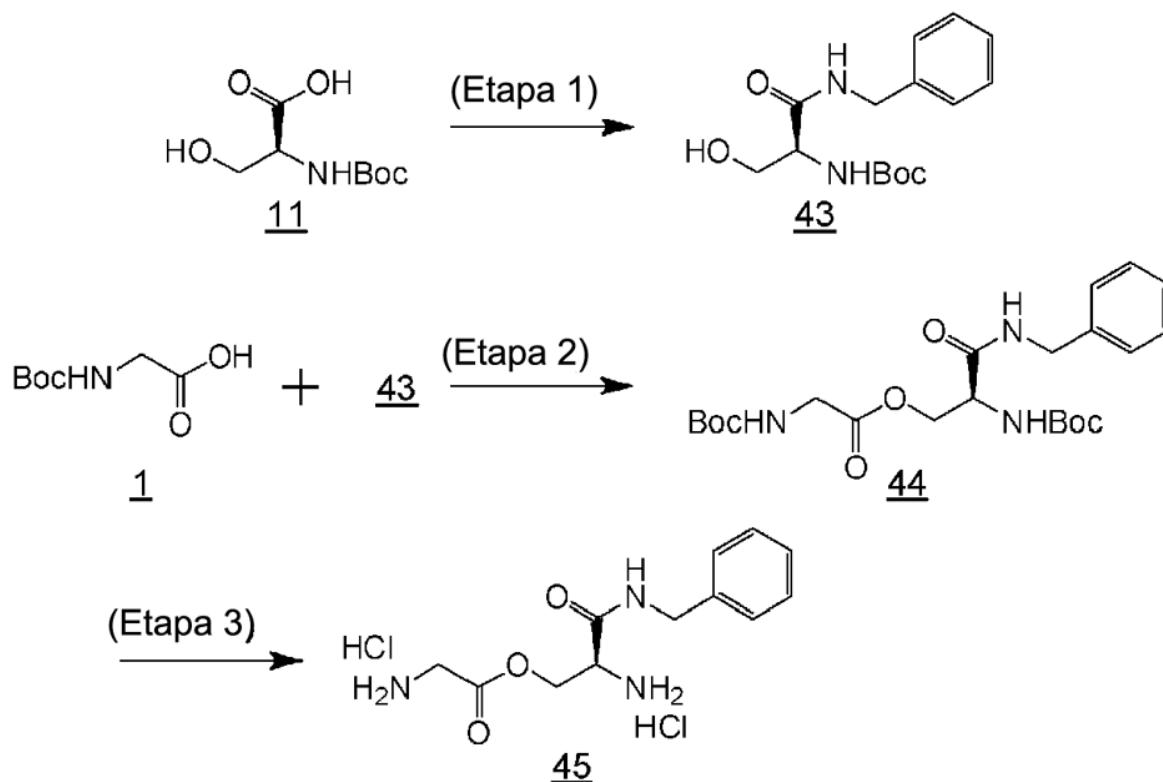
ESI-EM: calc. para $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 191,1; encontrado 191,1

10 Ejemplo de referencia 14

Síntesis de diclorhidrato de 2-aminoacetato de (S)-2-amino-3-bencilamino-3-oxopropilo (GlySerNHbN) (compuesto 45)

El compuesto 45 se sintetizó de la siguiente manera.

- 15 [Fórm. quím. 20]



20 (Etapa 1)

Se disolvió Boc-L-serina (compuesto 11) (2,00 g, 9,77 mmol) en metanol (MeOH) (30 ml), y se añadieron secuencialmente bencilamina (1,63 ml, 14,6 mmol) y DMT-MM (3,97 g, 14,4 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 4 horas. Se concentró a vacío el líquido de reacción, se diluyó con acetato de etilo (EtOAc) (50 ml), y se lavó con agua (50 ml x 3), disolución acuosa de HCl 0,5 N (50 ml) y solución salina saturada (50 ml). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio y se filtró, y se concentró a vacío el filtrado. Se secó a vacío el residuo. Por tanto, se obtuvo el compuesto 43 (2,82 g, 9,59 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 98%).

- 25 $^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{CDCl}_3, \delta)$ 1,41(9H, s, Boc), 3,54(1H, sa, OH), 3,67-3,70(1H, m, CH), 4,06(1H, d, $J=9\text{Hz}$, CH), 4,19(1H, m, CH), 4,38-4,45(2H, m, CH_2), 5,69(1H, d, $J=8\text{Hz}$, NH), 7,16(1H, sa, HN), 7,23-7,32(5H, m, Ph)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 295,2; encontrado 295,4

(Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina (compuesto 2) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 43, se obtuvo el compuesto 44 (2,25 g, 4,98 mmol) a partir del compuesto 43 (1,64 g, 5,56 mmol) y el compuesto 1 (1,04 g, 5,91 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 90%).

$^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{CDCl}_3, \delta)$ 1,41-1,42(18H, s, Boc $\times$ 2), 3,79(2H, d, J=6Hz, CH₂), 4,35-4,48(5H, m, CH₂ $\times$ 2, CH), 5,31(1H, m, NH), 5,68(1H, d, J=7Hz, NH), 7,15(1H, m, NH), 7,22-7,31(5H, m, Ph)

ESI-EM: calc. para C₂₂H₃₃N₃O₇ [M+H]⁺, 452,2; encontrado 452,4

(Etapa 3)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 44, se obtuvo el compuesto del título 45 (785 mg, 2,42 mmol) a partir del compuesto 44 (1,16 g, 2,58 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 94%).

$^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{DMSO-d}_6, \delta)$ 3,81(2H, dd, J=32Hz, 17Hz, CH₂), 4,25(1H, t, J=5Hz, CH), 4,36(2H, ddd, J=26Hz, 15Hz, 6Hz, CH₂), 4,54-4,69(2H, m, CH₂), 7,25-7,36(5H, m, Ph), 8,63-8,68(6H, sa, NH₃32), 9,37(1H, t, J=6Hz, NH)

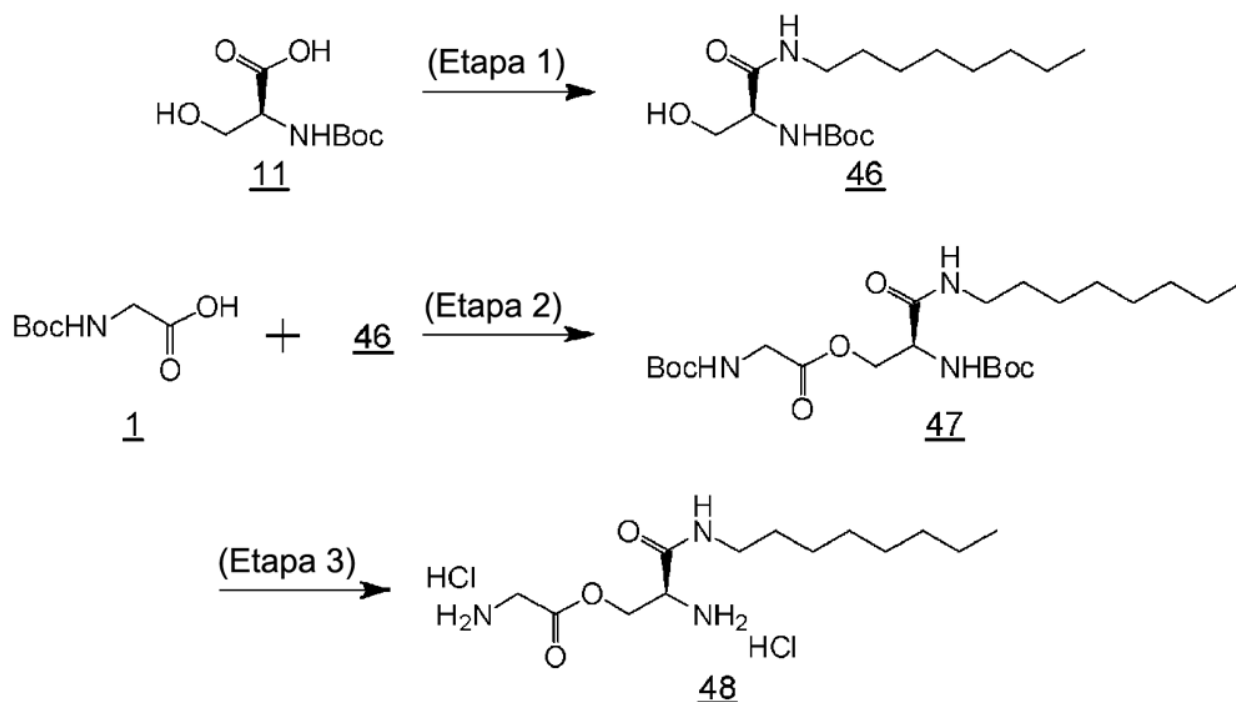
ESI-EM: calc. para C₁₂H₁₇N₃O₃ [M+H]⁺, 252,1; encontrado 252,2

Ejemplo de referencia 15

Síntesis de diclorhidrato de 2-aminoacetato de (S)-2-amino-3-(octilamino)-3-oxopropilo (GlySerNHC8) (compuesto 48)

El compuesto 48 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 21]



(Etapas 1 y 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 14 (etapa 1) excepto que la bencilamina usada en el ejemplo de referencia 14 (etapa 1) se reemplazó por n-octilamina, se obtuvo el compuesto 46 bruto (3,31 g) a partir del compuesto 11 (2,00 g, 9,74 mmol) y n-octilamina (2,47 ml, 14,6 mmol) como un sólido blanco.

Posteriormente, de sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina (compuesto 2) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 46, se obtuvo el compuesto 47 (2,61 g, 5,53 mmol) a partir del compuesto 46 bruto (2,05 g, 6,04 mmol (calculado en cuanto a la

pureza como 93,0% en peso)) y el compuesto 1 (1,17 g, 6,67 mmol) como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento en 2 etapas: 92%).

$^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{CDCl}_3, \delta)$ 0,88(3H, t, $J=7\text{Hz}$, CH_3), 1,26-1,29(10H, m, $\text{CH}_2 \times 5$), 1,45-1,52(20H, m, CH_2 , $\text{Boc} \times 2$), 3,25(2H, dd, $J=14\text{Hz}, 7\text{Hz}$, CH_2), 3,87-3,92(2H, m, CH_2), 4,36-4,44(3H, m, CH , CH_2), 5,16(1H, sa, NH), 5,46(1H, sa, NH), 6,49(1H, sa, NH)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{23}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 474,3; encontrado 474,5

(Etapa 3)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 47, se obtuvo el compuesto del título 48 (803 mg, 2,32 mmol) a partir del compuesto 47 (1,23 g, 2,61 mmol) como un sólido blanco (rendimiento del 89%).

$^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{DMSO}-d_6, \delta)$ 0,86(3H, t, $J=7\text{Hz}$, CH_3), 1,26-1,30(10H, m, $\text{CH}_2 \times 5$), 1,41-1,45(2H, m, CH_2), 3,09-3,13(2H, m, CH_2), 3,82(2H, dd, $J=26\text{Hz}, 18\text{Hz}$, CH_2), 4,13(1H, dd, $J=6\text{Hz}, 5\text{Hz}$, CH), 4,49(2H, ddd, $J=22\text{Hz}, 12\text{Hz}, 5\text{Hz}$, CH_2), 8,58(6H, sa, $\text{NH}_3 \times 2$), 8,78(1H, t, $J=6\text{Hz}$, NH)

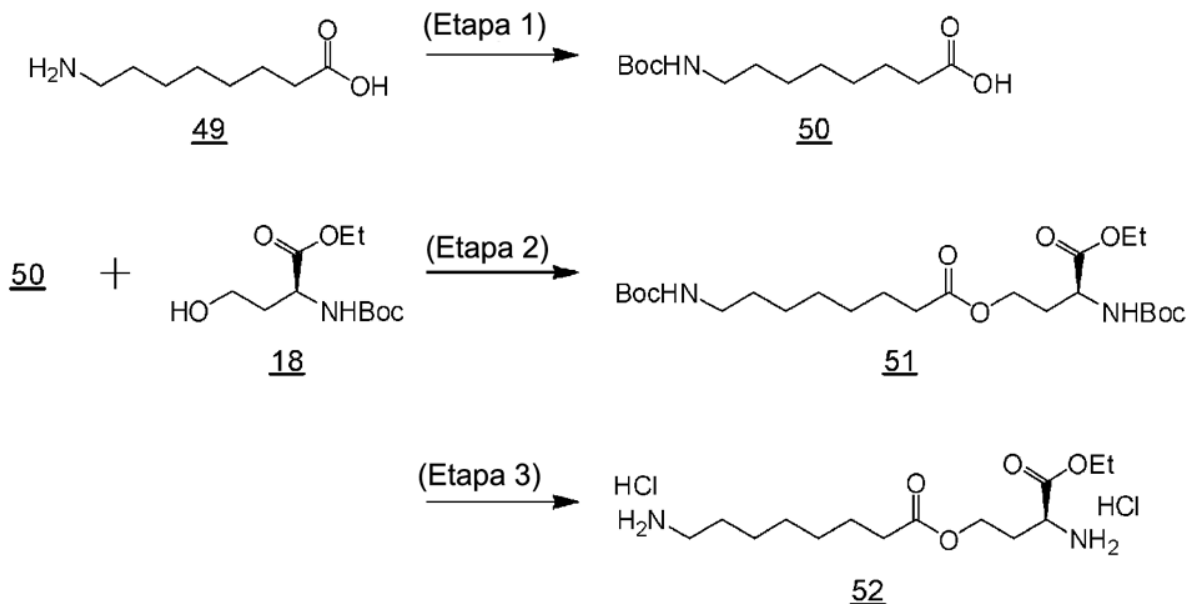
ESI-EM: calc. para $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 274,2; encontrado 274,3

Ejemplo de referencia 16

Síntesis de diclorhidrato de 8-aminooctanoato de (S)-3-amino-4-etoxi-4-oxobutilo (OctHomoSerEt) (compuesto 52)

El compuesto 52 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 22]



El compuesto 18 se sintetizó por el método descrito en Journal of Organic Chemistry, 2008, 73 (8), 3212-3217.

(Etapas 1 y 2)

Se disolvió ácido 8-aminooctanoico (compuesto 49) (1,49 g, 9,39 mmol) en 1,4-dioxano:disolución acuosa de hidróxido de sodio 1 N = 2:1 (30 ml). Mientras se realizaba el enfriamiento con hielo, se añadió gota a gota una disolución de dicarbonato de di-terc-butilo (2,47 g, 11,3 mmol) en dioxano:agua = 2:1 (30 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 15 horas. Se concentró a vacío el líquido de reacción, se diluyó con acetato de etilo (45 ml), y se lavó con agua (75 ml x 2) y ácido clorhídrico 0,2 N (50 ml). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio y se filtró, y se concentró a vacío el filtrado. Se secó a vacío el residuo. Por tanto, se obtuvo el compuesto 50 bruto (2,73 g) como un sólido blanco.

Posteriormente, de sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-glicina (compuesto 1) usado en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 50 y Boc-etanolamina (compuesto 2) se reemplazó por el compuesto 18, se obtuvo el compuesto 51 (1,17 g, 2,47 mmol) a partir del compuesto 50 bruto (1,02 g, 3,52 mmol (calculado en cuanto a la pureza como 89,2% en peso)) y el compuesto 18 (1,10 g, 4,45 mmol) como un sólido blanco (rendimiento en 2 etapas: 70%).

$^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{CDCl}_3, \delta)$ 1,27-1,31(11H, m, CH_3 , $\text{CH}_2 \times 4$), 1,44(18H, sa, $\text{Boc} \times 2$), 1,60-1,62(2H, m, CH_2), 1,99-2,04(1H, m, CH), 2,16-2,20(1H, m, CH), 2,28(2H, t, $J=8\text{Hz}$, CH_2), 3,09-3,10(2H, m, CH_2), 4,12(1H, dt, $J=12\text{Hz}$, 6Hz, CH), 4,16-4,23(3H, m, CH_2 , CH), 4,38-4,39(1H, m, CH), 4,58(1H, sa, NH), 5,18(1H, d, $J=7\text{Hz}$, NH)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{24}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 489,3; encontrado 489,4

(Etapa 3)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 51, se obtuvo el compuesto del título 52 (775 mg, 2,15 mmol) a partir del compuesto 51 (1,17 g, 2,40 mmol) como un líquido viscoso blanco (rendimiento del 89%).

$^1\text{H-RMN}(500\text{MHz}, \text{DMSO}-d_6, \delta)$ 1,23-1,31(9H, m, CH_3 , $\text{CH}_2 \times 3$), 1,49-1,60(4H, m, $\text{CH}_2 \times 2$), 2,16-2,21(2H, m, CH_2), 2,29(2H, t, $J=8\text{Hz}$, CH_2), 2,72(2H, m, CH_2), 4,02-4,05(1H, m, CH), 4,12-4,23(4H, m, $\text{CH}_2 \times 2$), 8,15(3H, sa, NH_3), 8,82(3H, sa, NH_3)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 289,2; encontrado 289,2

Ejemplo 17

Preparación de sulfato de condroitina reticulado con el compuesto 7 (CS-GlySerEt)

(Método A)

Se disolvieron 1,70 g (3,33 mmol en cuanto a grupos carboxilo, 1,00 eq.) de CS (sal de sodio, El Código Farmacéutico Japonés, fabricado por SEIKAGAKU CORPORATION) en agua para inyección (WFI) de manera que su concentración sería del 10%, y etanol (EtOH) 17,0 ml se mezclan con lo mismo. Se añadieron secuencialmente una disolución acuosa de etanol al 50% (v/v) (1,70 ml) del compuesto 7 (36,8 mg, 0,042 eq.) (un agente de reticulación de diamina) sintetizado en el ejemplo de referencia 2, y una disolución de etanol al 50% (v/v) (1,70 ml) de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio N hidratado (DMT-MM) (232 mg, 0,252 eq.: 6 veces en relación con el agente de reticulación de diamina). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 10 minutos y se dejó reposar durante la noche.

Se añadió WFI (225 ml) al producto de reacción de reticulación que resultó de la noche en reposo, y se agitó la mezcla vigorosamente durante 4 horas para triturar el producto de reacción solidificado. Se añadió una disolución de cloruro de sodio (NaCl) (1,50 g/6,00 ml), y Se añadió gota a gota EtOH para producir precipitación. Se recogió el precipitado por filtración, y se lavó con 150 ml de EtOH al 90% (v/v) tres veces y con 150 ml de EtOH dos veces. Se secó a vacío el precipitado resultante a 42°C durante la noche. De esta manera, se obtuvo sulfato de condroitina reticulado con el compuesto 7 (CS-GlySerEt) (1,45 g) como un polvo blanco.

(Método B: preparación de análogos)

Mediante un método similar al del ejemplo 17 (método A) excepto que se cambió el equivalente de compuesto 7 (0,030, 0,031, 0,034, 0,050 o 0,060 eq.), se obtuvieron varios tipos de CS reticulados (CS-GlySerEt) cada uno como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 1,40 g).

Ejemplo 18

Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 10 (CS-GlySerNH₂)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 10 (sintetizado en el ejemplo de referencia 3), se cambió el equivalente de compuesto 10 (0,030, 0,040, 0,050 ó 0,060 eq.), se cambió la cantidad de CS a 1,64 g y se cambió la concentración de CS inicial al 20,5%, se obtuvieron varios tipos de CS reticulados (CS-GlySerNH₂) cada uno como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 1,00 g).

(Cálculo de la razón de reticulación)

La razón de reticulación de cada uno de los CS reticulados obtenidos (CS-GlySerNH₂) se calculó tal como se define

en la fórmula (A) a continuación:

[Fórm. mat. 2]

$$\frac{\text{Equivalente molar del agente de reticulación de amina cuyos grupos amino en ambos extremos se unen al polisacárido ácido (mol)}}{\text{Equivalente molar total de grupos -COR en el polisacárido ácido reticulado (mol)}} \times 100 (\%) \quad (A)$$

5

(en la que R indica agente de reticulación de -OH, -ONa o NH.)

10 A partir de los resultados dados en la tabla a continuación, se demuestra que la razón de reticulación se correlacionó con (es decir, aumentó dependiendo de) el equivalente del agente de reticulación de diamina alimentado.

[Tabla 1]

	Equivalente (eq.) de agente de reticulación de diamina (por 1,00 eq. de grupos carboxilo)			
	0,03	0,04	0,05	0,06
Razón de reticulación (%)	0,84	1,80	2,37	2,64

15 Ejemplo 19

Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 4 (CS-GlyC2N)

20 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 4 (sintetizado en el ejemplo de referencia 1), se cambió el equivalente de compuesto 4 (0,015, 0,019, 0,023, 0,027 ó 0,035 eq.) y se cambió la cantidad de CS a 1,00 g, varios tipos de CS reticulados (CS-GlyC2N) cada uno como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,6 g).

25 Ejemplo 20

Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 10 (CS-GlySerNH2)

30 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 10 (sintetizado en el ejemplo de referencia 3), se cambió el equivalente de compuesto 10 (0,030, 0,033, 0,036, 0,040, 0,042, 0,045 ó 0,048 eq.) y se cambió la cantidad de CS a 1,70 g, se obtuvieron varios tipos de CS reticulados (CS-GlySerNH2) cada uno como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 1,50 g).

35 Ejemplo 21

Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 14 (CS-GlySerNHMe)

40 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 14 (sintetizado en el ejemplo de referencia 4) y se cambió el equivalente del compuesto 14 (0,030, 0,035, 0,040, 0,045 ó 0,050 eq.), se obtuvieron varios tipos de CS reticulados (CS-GlySerNHMe) cada uno como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 1,50 g).

Ejemplo 22

45 Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 17 (CS-GlySerNMe2)

50 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 17 (sintetizado en el ejemplo de referencia 5) y se cambió el equivalente de compuesto 17 (0,030, 0,035, 0,040, 0,045 ó 0,050 eq.), se obtuvieron varios tipos de CS reticulados (CS-GlySerNMe2) como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 1,50 g).

Ejemplo 23

55 Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 20 (CS-GlyHomoSerEt)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 20 (sintetizado en el ejemplo de referencia 6) y se cambió el

equivalente de compuesto 20 (0,016, 0,019, 0,028 ó 0,038 eq.), se obtuvieron varios tipos de CS reticulados (CS-GlyHomoSerEt) como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 1,50 g).

Ejemplo 24

Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 24 (CS-AlaC2MeN)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 24 (sintetizado en el ejemplo de referencia 7) y se cambió el equivalente de compuesto 24 (0,028, 0,033, 0,036, 0,042 ó 0,054 eq.), se obtuvieron varios tipos de CS reticulados (CS-AlaC2MeN) como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 1,50 g).

Ejemplo 25

Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 27 (CS-AlaC2Me2N)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 27 (sintetizado en el ejemplo de referencia 8) y se cambió el equivalente de compuesto 27 (0,046, 0,054, 0,058 ó 0,062 eq.), se obtuvieron varios tipos de CS reticulados (CS-AlaC2Me2N) como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 1,50 g).

Ejemplo de referencia 26

Preparación de ácido hialurónico reticulado con compuesto 10 (HA-GlySerNH2)

(Método C)

Se disolvió 1,00 g (2,49 mmol en cuanto a grupos carboxilo, 1,00 eq.) de hialuronato de sodio (a continuación en el presente documento, HA) (fabricado por SEIKAGAKU CORPORATION) en WFI de manera que su concentración sería del 2,34% en peso, y se mezclan 42,7 ml de etanol con lo mismo. Se disolvieron cada uno de compuesto 10 (sintetizado en el ejemplo de referencia 3) (55,5 mg, 0,095 eq.) y DMT-MM (394 mg, 0,571 eq.: 6 veces en relación con el agente de reticulación de diamina) en una disolución acuosa de EtOH al 50% (v/v) (total 7,10 ml), y se añadieron secuencialmente las disoluciones respectivas. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 10 minutos, y se dejó reposar durante la noche.

Se añadieron WFI (50 ml) y disolución de NaCl/WFI (1,00 g/4,00 ml) al producto de reacción de reticulación que resultó de la noche en reposo, y se agitó la mezcla vigorosamente durante 4 horas para triturar el producto de reacción solidificado. Las operaciones posteriores fueron sustancialmente las mismas que las del método descrito en el ejemplo 17 (método A). De esta manera, se obtuvo un ácido hialurónico reticulado (HA-GlySerNH2) (1,02 g) como un polvo blanco.

(Método D: Preparación de análogos)

Mediante sustancialmente el mismo método que en el ejemplo de referencia 26 (método C) excepto que se cambió el equivalente de compuesto 10 a (0,151 ó 0,190 eq.), se obtuvieron HA reticulados (HA-GlySerNH2) cada uno como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 1,00 g).

Ejemplo de referencia 27

Preparación de ácido hialurónico reticulado con compuesto 24 (HA-AlaC2MeN)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 26 (método C) excepto que el compuesto 10 usado en el ejemplo de referencia 26 (método C) se reemplazó por el compuesto 24 (sintetizado en el ejemplo de referencia 7) y se cambió el equivalente de compuesto 24 (0,095, 0,151 ó 0,190 eq.), se obtuvieron varios tipos de HA reticulados (HA-AlaC2MeN) cada uno como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 1,00 g).

Ejemplo de referencia 28

Preparación de carboximetilcelulosa reticulada con compuesto 10 (CMC-GlySerNH2)

(Método E)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 26 (método C) excepto que el HA usado en el ejemplo de referencia 26 (método C) se reemplazó por carboximetilcelulosa de sodio [número de unidades de repetición de Glc $\approx$ 500] (a continuación en el presente documento, CMC) (fabricado por Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.), la cantidad inicial de CMC fue de 1,11 g (2,52 mmol en cuanto a grupos carboxilo, 1,00 eq.), la concentración de

CMC fue del 2,32% en peso y la cantidad de EtOH añadido fue de 32 ml, usando compuesto 10 (sintetizado en el ejemplo de referencia 3) (0,168, 0,224 ó 0,280 eq.), se obtuvieron CMC reticuladas (CMCGlySerNH₂) cada una como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,95 g).

5 Ejemplo de referencia 29

Preparación de carboximetilcelulosa reticulada con compuesto 24 (CMC-AlaC₂MeN)

10 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 28 (método E) excepto que el compuesto 10 usado en el ejemplo de referencia 28 (método E) se reemplazó por el compuesto 24 (sintetizado en el ejemplo de referencia 7), se cambió la cantidad de CMC a 0,56 g y se cambió el equivalente de compuesto 24 (0,180, 0,240 ó 0,300 eq.), se obtuvieron varios tipos de CMC reticuladas (CMC-AlaC₂MeN) cada una como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,47 g).

15 Ejemplo de referencia 30

Preparación de ácido alginico reticulado con compuesto 10 (Alg-GlySerNH₂)

(Método F)

20 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 26 (método C) excepto que el HA usado en el ejemplo de referencia 26 (método C) se reemplazó por alginato de sodio [viscosidad: de 500 a 600 mPa·s] (a continuación en el presente documento, Alg) (fabricado por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), la cantidad inicial de Alg fue de 1,08 g (5,46 mmol en cuanto a grupos carboxilo, 1,00 eq.), la concentración de Alg fue del 1,23% en peso y la cantidad de EtOH añadida fue de 29,3 ml, usando compuesto 10 (sintetizado en el ejemplo de referencia 3) (0,123, 0,146 ó 0,168 eq.), se obtuvieron Alg reticulados (Alg-GlySerNH₂) cada uno como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,95 g).

30 Ejemplo de referencia 31

Preparación de ácido alginico reticulado con compuesto 24 (Alg-AlaC₂MeN)

35 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 30 (método F) excepto que el compuesto 10 usado en el ejemplo de referencia 30 (método F) se reemplazó por el compuesto 24 (sintetizado en el ejemplo de referencia 7), se cambió la cantidad de CMC a 0,54 g y se cambió el equivalente de compuesto 24 (0,123, 0,146 ó 0,168 eq.) se obtuvieron varios tipos de Alg reticulados (Alg-AlaC₂MeN) cada uno como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,46 g).

40 Ejemplo comparativo 1

Preparación de sulfato de condroitina reticulado con diclorhidrato de etano-1,2-diamina (CS-NC₂N)

45 Se repitieron los procedimientos en el ejemplo 17 (método A), excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por diclorhidrato de etano-1,2-diamina (NC₂N), el equivalente de diclorhidrato de etano-1,2-diamina fue de 0,022 ó 0,030 eq., el equivalente de DMT-MM fue de 0,132 ó 0,120 eq. y se cambió la cantidad de CS a 1,70 ó 5,00 g. De esta manera, se obtuvieron CS reticulados (CS-NC₂N) cada uno como un polvo blanco (1,50 g y 4,85 g, respectivamente).

50 Ejemplo comparativo 2

Preparación de ácido hialurónico reticulado con diclorhidrato de etano-1,2-diamina (HA-NC₂N)

55 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 26 (método C) excepto que el compuesto 10 usado en el ejemplo de referencia 26 (método C) se reemplazó por diclorhidrato de etano-1,2-diamina y se cambió el equivalente de diclorhidrato etano-1,2-diamina (0,085, 0,135 ó 0,170 eq.), se obtuvieron varios tipos de HA reticulados (HA-NC₂N) cada uno como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 1,00 g).

Ejemplo comparativo 3

Preparación de carboximetilcelulosa reticulada con diclorhidrato de etano-1,2-diamina (CMC-NC₂N)

60 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 28 (método E) excepto que el compuesto 10 usado en el ejemplo de referencia 28 (método E) se reemplazó por diclorhidrato de etano-1,2-diamina, se cambió la cantidad de CMC a 0,56 g y se cambió el equivalente de diclorhidrato de etano-1,2-diamina (0,150, 0,200 ó 0,250 eq.), se obtuvieron varios tipos de CMC reticuladas (CMC-NC₂N) cada una como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,45 g).

Ejemplo comparativo 4

Preparación de ácido alginico reticulado con diclorhidrato de etano-1,2-diamina (Alg-NC2N)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 30 (método F) excepto que el compuesto 10 usado en el ejemplo de referencia 30 (método F) se reemplazó por diclorhidrato de etano-1,2-diamina, se cambió la cantidad de Alg a 0,54 g y se cambió el equivalente de diclorhidrato de etano-1,2-diamina (0,110, 0,130 ó 0,150 eq.), se obtuvieron varios tipos de Alg reticulados (Alg-NC2N) como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,42 g).

Ejemplo 32

Cambios con el tiempo en la viscosidad de CS reticulados hinchados (CS-GlyC2N/AlaC2MeN/AlaC2Me2N/NC2N) (prueba *in vitro*)

Se añadió solución salina fisiológica tamponada con fosfato 20 mM a cada uno de los polvos blancos de CS-GlyC2N, CS-AlaC2MeN y CS-AlaC2Me2N preparados en los ejemplos 19, 24 y 25, y de CS-NC2N (control) preparado en el ejemplo comparativo 1, para así obtener CS reticulados hinchados como materiales de tipo gelatina. Usando estos materiales, se realizaron evaluaciones para determinar si el tiempo de desintegración del CS reticulado hinchado era controlable (es decir, la capacidad de desintegración después del periodo de tiempo requerido como material de relleno tisular). La concentración del material hinchado fue del 1,75%, y el pH estuvo cerca de las condiciones biológicas a 7,5. Para acelerar la tasa de cambio, los materiales hinchados se dejaron reposar a una temperatura de 60°C, y se midieron los cambios con el tiempo en la viscosidad de los materiales hinchados. La viscosidad de un material de este tipo se asocia con la persistencia del material en los tejidos vivos, y se sabe que la disminución de la viscosidad del material a un determinado valor o menos permite que el material desaparezca rápidamente del sitio de administración. Por ejemplo, se confirma que el CS original no reticulado, que tiene una viscosidad de aproximadamente -5 (LN (Pa · s)), se desintegra rápidamente de un organismo vivo en varias horas. Por tanto, la viscosidad del CS no reticulado puede servir como índice de persistencia. Además, como se describe a continuación en detalle, se ha confirmado que los resultados de esta prueba *in vitro* están correlacionados con los resultados de la prueba *in vivo* descrita en el ejemplo 37.

La viscosidad se midió con un viscosímetro rotativo de cono-placa TV-L (cono: CORD-1, 1°34' x R24, o CORD-6, 3° x R9,7) (fabricado por TOKI SANGYO CO., LTD.). Se adoptó el valor de viscosidad (Pa · s) medido a 25°C y 5 rpm.

Los resultados se ilustran en la figura 1. Los valores entre paréntesis descritos en las leyendas de la figura 1 representan el equivalente del agente de reticulación de diamina que se alimentó. En el caso del CS reticulado con diclorhidrato de etano-1,2-diamina que no tiene sitios biodegradables (CS-NC2N), no se observó ninguna disminución en la viscosidad, lo que significa la desaparición de los tejidos vivos (degradación de las reticulaciones). En cambio, los CS reticulados, cada uno preparado con el agente de reticulación de diamina que tiene un enlace éster como un sitio biodegradable, a saber, CS-GlyC2N, CS-AlaC2MeN y CS-AlaC2Me2N, han demostrado ser adecuados como materiales médicos, cada uno con un tiempo de desintegración controlable desde varios días hasta varios meses.

Ejemplo de referencia 33

Cambios con el tiempo en la viscosidad de HA reticulados hinchados (HA-GlySerNH2/AlaC2MeN/NC2N) (prueba *in vitro*)

Para evaluar la capacidad de desintegración después del periodo de tiempo requerido como material de relleno tisular, se sometieron a prueba HAGlySerNH2 y HA-AlaC2MeN preparados en los ejemplos de referencia 26 y 27, en forma hinchada, para medir los cambios con el tiempo en la viscosidad. Las condiciones fueron similares a las del método descrito en el ejemplo 32, excepto que el pH del líquido para hincharse fue de 9,0 y la temperatura fue de 50°C para acelerar la prueba. Como controles, se usaron HA-NC2N preparado en el ejemplo comparativo 2 y el HA original (no reticulado). Los resultados se ilustran en la figura 2. Los valores entre paréntesis descritos en las leyendas de la figura 2 representan el equivalente del agente de reticulación de diamina que se alimentó.

De manera similar a los resultados del ejemplo 32, el HA reticulado con diclorhidrato de etano-1,2-diamina que no tiene sitios biodegradables (HA-NC2N) no mostró ninguna disminución en la viscosidad, lo que significa desintegración de los tejidos vivos (degradación de las reticulaciones). Por el contrario, los HA reticulados preparados con el agente de reticulación de diamina que tiene un sitio biodegradable, concretamente, HA-GlySerNH2 y HA-AlaC2MeN, han demostrado tener una marcada diferencia en el tiempo de desintegración atribuido a la estabilidad de sus estructuras de éster. Debido a que el HA original (no reticulado) no cambió sustancialmente su viscosidad, se ha confirmado que el cambio en la viscosidad observado en los HA reticulados dependía de la degradación del agente de reticulación de diamina. Por tanto, se ha demostrado que mediante el uso de la diamina que tiene un sitio biodegradable, es posible preparar, también a partir de HA, un producto reticulado adecuado como material médico que tiene un tiempo de desintegración controlable desde varios días hasta varios meses en un organismo vivo.

Además, los resultados de este ejemplo han demostrado que la tendencia a la desintegración de los polisacáridos ácidos reticulados puede confirmarse incluso cuando el pH de los materiales hinchados se aumenta por encima de las condiciones de pH biológico.

Ejemplo de referencia 34

Cambios en la viscosidad de materiales de CMC reticulados hinchados (CMC-GlySerNH₂/AlaC₂MeN/NC₂N) con el tiempo (prueba *in vitro*)

Para evaluar la capacidad de desintegración después del periodo de tiempo requerido como material de relleno tisular, se sometieron a prueba CMC-GlySerNH₂ y CMC-AlaC₂MeN preparados en los ejemplos de referencia 28 y 29, en forma hinchada, para medir los cambios con el tiempo en la viscosidad. Las condiciones fueron similares a las del método descrito en el ejemplo de referencia 33, excepto que el pH del líquido para hincharse fue de 11,0 para acelerar la prueba. Como controles, se usaron CMC-NC₂N preparado en el ejemplo comparativo 3 y el CMC original (no reticulado). Los resultados se ilustran en la figura 3. Los valores entre paréntesis descritos en las leyendas de la figura 3 representan el equivalente del agente de reticulación de diamina que se alimentó.

Durante el periodo de prueba, no se observó una disminución significativa en la viscosidad en el CMC reticulado con diclorhidrato de etano-1,2-diamina que no tiene sitios biodegradables (CMC-NC₂N) y en el CMC original (no reticulado). En cambio, de manera similar a los resultados en el ejemplo 32 y el ejemplo de referencia 33, CMC-GlySerNH₂ y CMC-AlaC₂MeN preparados con el agente de reticulación de diamina que tiene un sitio biodegradable mostraron una disminución en la viscosidad, lo que significa la desaparición de los tejidos vivos (degradación de las reticulaciones), y tuvo una marcada diferencia en el tiempo de desintegración atribuido a sus estructuras de éster. Por tanto, se ha demostrado que mediante el uso del agente de reticulación de diamina que tiene un sitio biodegradable, es posible preparar, también a partir de CMC, un producto reticulado adecuado como material médico que tiene un tiempo de desintegración controlable desde varios días hasta varios meses en un organismo vivo.

Ejemplo de referencia 35

Cambios con el tiempo en la viscosidad de Alg reticulados hinchados (Alg-GlySerNH₂/AlaC₂MeN/NC₂N) (prueba *in vitro*)

Para evaluar la capacidad de desintegración después del periodo de tiempo requerido como material de relleno tisular, se sometieron a prueba Alg-GlySerNH₂ y Alg-AlaC₂MeN preparados en los ejemplos de referencia 30 y 31, en forma hinchada, por el mismo método que en el ejemplo de referencia 34 para medir los cambios con el tiempo en la viscosidad. Como controles, se usaron Alg-NC₂N preparado en el ejemplo Comparativo 4 y el Alg original (no reticulado). Los resultados se ilustran en la figura 4. Los valores entre paréntesis descritos en las leyendas en la figura 4 representan el equivalente del agente de reticulación de diamina que se alimentó.

Durante el periodo de prueba, no se observó una disminución significativa en la viscosidad en Alg reticulado con clorhidrato de etano-1,2-diamina que no tiene sitios biodegradables (Alg-NC₂N) y en el Alg original (no reticulado). En cambio, de manera similar a los resultados en el ejemplo 32 y los ejemplos de referencia 33 y 34, los Alg reticulados preparados con el agente de reticulación de diamina que tiene un sitio biodegradable, concretamente, Alg-GlySerNH₂ y Alg-AlaC₂MeN, mostraron una disminución en la viscosidad, lo que significa la desaparición de los tejidos vivos (degradación de las reticulaciones), y tenían una marcada diferencia en el tiempo de desintegración atribuido a sus estructuras de éster. Por tanto, se ha demostrado que mediante el uso del agente de reticulación de diamina que tiene un sitio biodegradable, es posible preparar, también a partir de ácido algínico, un producto reticulado adecuado como material médico que tiene un tiempo de desintegración controlable desde varios días hasta varios meses en un organismo vivo.

Ejemplo 36

Medición de tensión física de productos de CS reticulados

En esta prueba, se sometieron a prueba materiales de CS reticulados hinchados para medir la tensión física para separar los tejidos entre sí que se requiere en el uso como materiales de relleno tisular.

Antes de la prueba, los productos se sometieron a una prueba de hinchamiento/desintegración con solución salina tal como se describe a continuación en el ejemplo 38, y la concentración de hinchamiento de equilibrio de cada producto CS reticulado se calcula a partir del peso de los materiales hinchados después de 3 días.

Los productos de CS reticulados (CS-AlaC₂MeN) preparados en el ejemplo 24 se hincharon con solución salina de manera que la concentración fuera 1,5 veces la concentración de hinchamiento de equilibrio, y 1 g del material hinchado se empaquetó en un envase cilíndrico que tenía un área inferior de 3,8 cm² de manera que la superficie fuera plana. Se estudió la relación entre la deformación y la tensión según el método descrito en la norma JIS K6503,

Pegamentos y gelatinas de animales (5.4 Resistencia de la gelatina), excepto que la tasa de inserción fue de 4 mm/s, el diámetro de la sonda cilíndrica fue de 10 mm y la sonda se insertó a 5 mm por encima del fondo y se devolvió al punto de inicio. Los resultados se describen en la tabla 2 y la figura 5. Los valores entre paréntesis descritos en las leyendas de la figura 5 representan el equivalente del agente de reticulación de diamina que se alimentó.

CS-AlaC2MeN reticulado con el agente de reticulación de diamina presentó una tensión marcadamente mayor que la materia prima de CS no reticulada. Además, se ha demostrado que la tensión física óptima para su uso como materiales de relleno tisular en aplicaciones médicas puede controlarse controlando el equivalente del agente de reticulación.

[Tabla 2]

Muestra de prueba	Preparación	Concentración (% en peso)/solución salina	Equivalente del agente de reticulación de diamina (eq.)	Tensión máxima (kPa)
CS	Sin reticular	3,00	-	0,09
CS-AlaC2MeN	Ejemplo 24	2,24	0,028	3,11
CS-AlaC2MeN	Ejemplo 24	3,00	0,054	11,39

Ejemplo 37

Evaluación de rendimiento persistente de productos de CS reticulados (CS-GlySerEt/GlyC2N/AlaC2MeN/AlaC2Me2N) bajo la piel abdominal de ratas (prueba *in vivo*)

El rendimiento persistente de los materiales de CS reticulados hinchados bajo la piel abdominal de ratas se evaluó mediante el siguiente método.

(1) Bajo anestesia con isoflurano, se inyectaron por vía subcutánea ratas macho Wistar (de 7 semanas de edad) en el abdomen con 400 μ l/sitio de la sustancia de prueba que tenía la concentración de hinchamiento de equilibrio.

(2) Después de un periodo recomendado después de la inyección, se recogieron los tejidos alrededor del residuo y se separó el residuo. El peso del mismo se midió como el indicador de rendimiento persistente. (El porcentaje de peso residual (%) bajo la piel abdominal de ratas en relación con el peso inyectado como el 100%)

(3) Los productos de CS reticulados preparados en los ejemplos 17, 19, 24 y 25 se usaron en la prueba. Como control, se usó CS reticulado (CS-NC2N) preparado en el ejemplo comparativo 1.

(4) Antes de la prueba, cada uno de los productos de CS reticulados se sometió a una prueba de hinchamiento/desintegración con solución salina tal como se describe a continuación en el ejemplo 38. Después de 3 días, se midió el peso del material hinchado para calcular la concentración de hinchamiento en equilibrio. Los productos de CS reticulados se hincharon cada uno con una disolución tampón de pH 5,2 a la concentración de hinchamiento de equilibrio, preparando así las muestras usadas en la prueba.

Tal como se ilustra en la figura 6, los resultados han demostrado que los materiales hinchados de los productos de CS reticulados producidos con los diversos agentes de reticulación de diamina que tienen un sitio biodegradable persistieron en los organismos vivos durante varios periodos de tiempo que van desde 2 semanas hasta 24 semanas o más, hasta aproximadamente un año. Los valores entre paréntesis descritos en las leyendas de la figura 6 representan el equivalente del agente de reticulación de diamina que se alimentó. Los resultados estaban altamente correlacionados con los resultados de la prueba *in vitro* (cambios en la viscosidad con el tiempo) descritos en el ejemplo 32. Tal como se comentó anteriormente, los polisacáridos ácidos reticulados preparados con el agente de reticulación de diamina que tiene un sitio biodegradable son muy útiles como materiales de relleno tisular que presentan una alta biocompatibilidad y tienen un tiempo de persistencia controlable con precisión según el sitio de administración o el propósito de uso.

Ejemplo 38

Prueba de hinchamiento/desintegración (*in vitro*) de productos de CS reticulados (CS-GlySerNH₂)

Se exige que los materiales que impiden la adhesión ideales no sólo tengan un alto rendimiento antiadhesivo sino que también se desintegren rápidamente después de que haya transcurrido un periodo recomendado. En esta serie de pruebas, la propiedad de hinchamiento al absorber agua a través de un filtro representa el rendimiento antiadhesivo

que aísla una herida, y la reducción de peso al salir del material a través de un filtro representa el rendimiento de desintegración en organismos vivos.

Específicamente, la prueba incluyó un filtro de 0,22 µm y una disolución tampón (pH 10,9) para realizar la prueba en condiciones biológicas aceleradas. El peso total (mg) del material hinchado por 1 mg del polvo de muestra de prueba se definió como el grado de hinchamiento, y los cambios en el grado de hinchamiento con el tiempo se representaron gráficamente en la ordenada.

(Muestras de prueba)

Se usaron productos de CS reticulados (CS-GlySerNH₂) preparados en el ejemplo 18.

(Resultados)

Los resultados de la prueba se ilustran en la figura 7. Los valores entre paréntesis descritos en las leyendas de la figura 7 representan el equivalente del agente de reticulación de diamina que se alimentó. Tal como se ilustra en la figura 7, CS-GlySerNH₂ reticulado con GlySerNH₂ mostró hinchamiento rápido y desintegración rápida en cualquier equivalente. Los resultados estaban muy altamente correlacionados con el rendimiento antiadhesivo/rendimiento de desintegración *in vivo* descrito en el ejemplo 42. Por tanto, se ha demostrado que los productos reticulados que tienen un patrón de cambio de peso similar al patrón de cambio de peso en la figura 7 obtenido en esta serie de las pruebas presentarán rendimiento antiadhesivo/rendimiento de desintegración también *in vivo*.

Ejemplo de referencia 39

Prueba de hinchamiento/desintegración (*in vitro*) de productos de HA reticulados (HA-GlySerNH₂)

(Método de prueba)

La prueba se realizó mediante un método similar al descrito en el ejemplo 38.

(Muestras de prueba)

Se usaron los productos de HA reticulados (HA-GlySerNH₂ y HA-NC₂N) preparados en el ejemplo de referencia 26 y el ejemplo comparativo 2.

(Resultados)

Los resultados de la prueba se ilustran en la figura 8. Los valores entre paréntesis descritos en las leyendas en la figura 8 representan el equivalente del agente de reticulación de diamina que se alimentó. Tal como se ilustra en la figura 8, HA-GlySerNH₂ presentó características de hinchamiento/desintegración similares a las del ejemplo 38 y, por tanto, se demostró que eran útiles como materiales que impiden la adhesión. El producto de HA reticulado (HA-NC₂N) preparado con clorhidrato de etano-1,2-diamina que no tiene sitios biodegradables se hinchó pero no mostró ninguna desintegración por la descomposición del agente de reticulación de diamina. Los resultados de esta prueba se correlacionaron muy altamente con el rendimiento antiadhesivo/rendimiento de desintegración *in vivo* descrito en el ejemplo 42. Por tanto, se ha demostrado que el sitio biodegradable en la estructura del agente de reticulación de diamina desempeña un papel muy importante en el control del rendimiento de desintegración de manera apropiada.

Ejemplo de referencia 40

Prueba de hinchamiento/desintegración (*in vitro*) de productos de CMC reticulados (CMC-GlySerNH₂)

(Método de prueba)

La prueba se realizó mediante un método similar al descrito en el ejemplo 38.

(Muestras de prueba)

Se usaron CMC-GlySerNH₂ y CMC-NC₂N preparados en el ejemplo de referencia 28 y el ejemplo comparativo 3.

(Resultados)

Los resultados de la prueba se ilustran en la figura 9. Los valores entre paréntesis descritos en las leyendas en la figura 9 representan el equivalente del agente de reticulación de diamina que se alimentó. Tal como se ilustra en la figura 9, CMC-GlySerNH₂ presentó características de hinchamiento/desintegración similares a las del ejemplo 38 y, por tanto, se demostró que eran útiles como materiales que impiden la adhesión. El producto de CMC reticulado (CMC-NC₂N) preparado con diclorhidrato de etano-1,2-diamina que no tiene sitios biodegradables mostró resultados

similares a los obtenidos en el ejemplo de referencia 39.

Ejemplo de referencia 41

5 Prueba de hinchamiento/desintegración (*in vitro*) de productos de Alg reticulados (Alg-GlySerNH₂)

(Método de prueba)

La prueba se realizó mediante un método similar al descrito en el ejemplo 38.

10 (Muestras de prueba)

Se usaron Alg-GlySerNH₂ y Alg-NC2N preparados en el ejemplo de referencia 30 y el ejemplo comparativo 4.

15 (Resultados)

Los resultados de la prueba se ilustran en la figura 10. Los valores entre paréntesis descritos en las leyendas en la figura 10 representan el equivalente del agente de reticulación de diamina que se alimentó. Tal como se ilustra en la figura 10, Alg-GlySerNH₂ presentó características de hinchamiento/desintegración similares a las del ejemplo 38, y así se demostró que eran útiles como materiales para prevenir la adhesión. El producto de Alg reticulado (Alg-NC2N) preparado con diclorhidrato de etano-1,2-diamina que no tiene sitios biodegradables mostró resultados similares a los obtenidos en el ejemplo de referencia 39.

Ejemplo 42

25 Prueba de rendimiento antiadhesivo/rendimiento de desintegración (*in vivo*) de productos CS reticulados en modelos de adhesión de trompa uterina de rata

(1. Animales de prueba)

30 Las ratas hembra Crl: CD (SD) (SPF) adquiridas a la edad de 7 semanas se usaron en la prueba después de ser alimentadas preliminarmente durante 1 semana antes de la prueba. Se usaron cinco individuos por sustancia de prueba.

35 (2. Método de prueba)

(2-1. Preparación de modelos de adhesión de trompa uterina de rata)

40 Bajo anestesia por inhalación de isoflurano (concentración del 3%, velocidad de flujo de 2 a 3 l/min), se afeitó la zona abdominal de las ratas y se desinfectó con alcohol. Después de esto, se realizó una incisión en la línea media de aproximadamente 4 cm. La musculatura de la pared abdominal derecha de la rata quedó expuesta. Con un trépano de 8 mm de diámetro para trasplante de córnea, se realizó una incisión circular a aproximadamente 1,5 cm de la incisión de la línea media hacia la parte posterior. La musculatura dentro de la incisión circular se retiró con unas pinzas y se preparó así una capa circular defectuosa. Posteriormente, se expuso la trompa uterina derecha. Con las tijeras oftálmicas, se crearon cuatro heridas incisionales a intervalos de 2 a 3 mm desde aproximadamente 1 cm a un lado del ovario hacia el cuello uterino. El sangrado de las heridas se detuvo según sea necesario con un electrocauterización. Para promover la formación de fuertes adherencias, los dos extremos de la trompa uterina se cosieron a la pared abdominal con una puntada de hilo de sutura 8/0 para que la herida defectuosa en la pared abdominal se uniera a las heridas incisionales en la trompa uterina.

50 [Muestras de prueba]: Las muestras de prueba se prepararon interponiendo el polvo del polisacárido ácido reticulado o el polvo del polisacárido ácido no reticulado, cada uno de 25 mg/sitio, y Seprafilm comercial (1 x 3 cm) entre el defecto en la pared abdominal y las heridas incisionales en la trompa uterina.

55 [Controles]: Los controles se prepararon operando quirúrgicamente la pared abdominal izquierda y la trompa uterina izquierda de los animales usados en la preparación de las muestras de prueba de la misma manera pero sin interponer ningún material.

60 (3. Método de evaluación)

Siete días después del implante, las ratas se sacrificaron por desangrado de la arteria carótida con anestesia con éter y se diseccionaron. Los efectos antiadhesivos de las sustancias candidatas se evaluaron basándose en la tasa de aparición de adherencias. En el presente documento, los efectos antiadhesivos se determinaron como la razón de los individuos con adherencias con respecto a los individuos a los que se les administró la sustancia de prueba (los cinco individuos). Después de completar la prueba, la concentración de la sustancia de prueba en la cavidad abdominal se

midió mediante un método de sulfato de carbazol y se comparó con la del control. La capacidad de desintegración de las sustancias de prueba se evaluó como “Desaparecida” cuando la sustancia de prueba administrada no se detectó sustancialmente, y como “Restante” cuando se detectó una cantidad distinta de la sustancia de prueba.

5 (4. Resultados)

Los resultados de la prueba se describen en la tabla 3.

[Tabla 3]

Ej.	Sustancia de prueba	Peso equivalente (eq.)	Efectos antiadhesivos		Capacidad de desintegración
			Muestras de prueba	Controles	
17	CS-GlySerEt	0,034	0/5	5/5	Desaparecida
17	CS-GlySerEt	0,042	1/5	5/5	Desaparecida
17	CS-GlySerEt	0,050	0/5	5/5	Desaparecida
17	CS-GlySerEt	0,060	0/5	5/5	Desaparecida
19	CS-GlyC2N	0,023	0/5	5/5	Desaparecida
20	CS-GlySerNH ₂	0,033	0/5	5/5	Desaparecida
20	CS-GlySerNH ₂	0,036	0/5	5/5	Desaparecida
18	CS-GlySerNH ₂	0,040	0/5	5/5	Desaparecida
20	CS-GlySerNH ₂	0,045	0/5	5/5	Desaparecida
20	CS-GlySerNH ₂	0,048	0/5	5/5	Desaparecida
18	CS-GlySerNH ₂	0,050	0/5	5/5	Desaparecida
21	CS-GlySerNHMe	0,030	1/5	5/5	Desaparecida
21	CS-GlySerNHMe	0,035	0/5	5/5	Desaparecida
21	CS-GlySerNHMe	0,045	0/5	5/5	Desaparecida
21	CS-GlySerNHMe	0,050	0/5	5/5	Desaparecida
22	CS-GlySerNMe ₂	0,030	1/5	5/5	Desaparecida
22	CS-GlySerNMe ₂	0,035	0/5	5/5	Desaparecida
22	CS-GlySerNMe ₂	0,045	1/5	5/5	Desaparecida
23	CS-GlyHomoSerEt	0,019	0/5	5/5	Desaparecida
Ej. comp. A	Seprafilin	-	5/5	5/5	Desaparecida
Ej. comp. B	CS	-	5/5	5/5	Desaparecida
Ej. comp. C	CS-NC2N	0,030	0/5	5/5	Restante

Como resulta evidente a partir de los resultados en la tabla 3, Seprafilin comercial (ejemplo comparativo A) y sulfato de condroitina sódico (CS) que era la materia prima no reticulada (ejemplo comparativo B) se desintegraron en los modelos de adhesión pero no presentaron ningún efecto antiadhesivo.

Por otro lado, los productos de CS reticulados preparados con el grupo de unión de diamina de la invención que tiene un sitio biodegradable mostraron efectos antiadhesivos significativos y se desintegraron rápidamente después de un periodo recomendado, y así se demostró que eran muy útiles como materiales que impiden la adhesión.

Si bien el CS-NC2N reticulado con diclorhidrato de etano-1,2-diamina que no tiene sitios biodegradables (ejemplo comparativo C) presentó efectos antiadhesivos significativos, la sustancia de prueba permaneció incluso después de las extensiones determinadas del periodo recomendado.

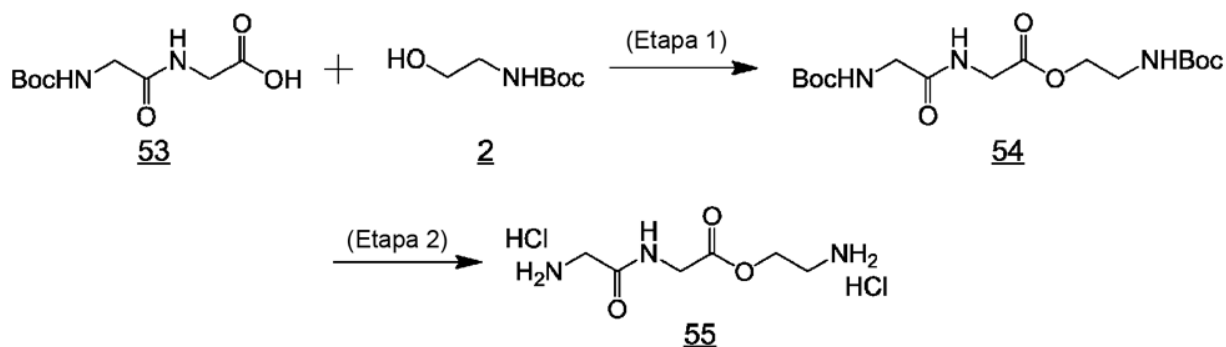
Basándose en los resultados anteriores, se ha confirmado que los agentes de reticulación de diamina de la invención para polisacáridos ácidos se desintegran en un momento apropiado y los polisacáridos ácidos reticulados de la invención obtenidos usando tales agentes de reticulación alcanzan un alto rendimiento antiadhesivo y un rendimiento de desintegración rápido al mismo tiempo.

Ejemplo de referencia 43

Síntesis de diclorhidrato de 2-(2-aminoacetamido)acetato de 2-aminoetilo (GlyGlyC2N)·(compuesto 55)

El compuesto 55 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 23]



El compuesto 53 se adquirió de Chem-Impex International, Inc.

(Etapa 1)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-glicina (compuesto 1) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 53, se obtuvo el compuesto 54 (2,50 g, 6,65 mmol) a partir del compuesto 53 (2,01 g, 8,63 mmol) y el compuesto 2 (1,39 g, 8,61 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 77%).

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, CDCl_3 , δ) 1,44-1,46(18H, s, Boc $\times$ 2), 3,40-3,41(2H, m, CH_2NHBoc), 3,85(2H, d, $J=6\text{Hz}$, BocNH CH_2), 4,07(2H, d, $J=5\text{Hz}$, NH CH_2COO), 4,12(2H, t, $J=5\text{Hz}$, COOCH_2), 4,92(1H, sa, NHBoc), 5,21(1H, sa, BocNH), 6,70(1H, sa, CONH)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 393,2; encontrado 393,2

(Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 54, se obtuvo el compuesto del título 55 (692 mg, 2,79 mmol) a partir del compuesto 54 (1,05 g, 2,79 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 100%).

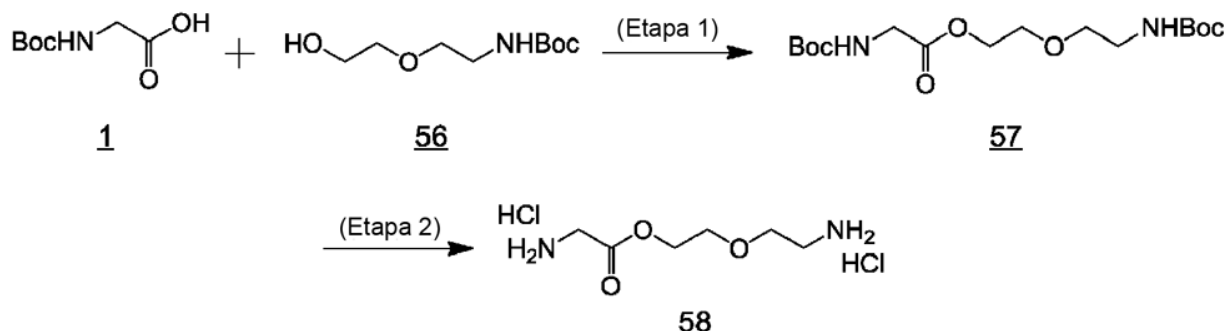
$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, DMSO-d_6 , δ) 3,08(2H, d, $J=5\text{Hz}$, COOCH_2), 3,64(2H, s, NH_3CH_2), 4,05(2H, d, $J=7\text{Hz}$, CONH CH_2), 4,30(2H, t, $J=5\text{Hz}$, CH_2NH_3), 8,37(6H, sa, $\text{NH}_3\times 2$), 9,07(1H, t, $J=7\text{Hz}$, CONH)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 176,1; encontrado 176,2

Ejemplo de referencia 44Síntesis de diclorhidrato 2-aminoacetato de 2-(2-aminoetoxi)etilo (GlyC2OC2N) (compuesto 58)

El compuesto 58 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 24]



El compuesto 56 se sintetizó por el método descrito en Biochemical and Biophysical Research Communications 374 (2008) 419-423.

(Etapa 1)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina (compuesto 2) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 56, se obtuvo el compuesto 57 (4,14 g, 11,4 mmol) a partir del compuesto 1 (2,01 g, 11,4 mmol) y el compuesto 56 (2,36 g, 11,5 mmol), como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento del 100%).

^1H -RMN(500MHz, CDCl_3 , δ) 1,45(18H, m, Boc $\times$ 2), 3,31-3,32(2H, m, CH_2NHBoc), 3,54(2H, t, $J=5\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHBoc}$), 3,66-3,69(2H, m, CH_2), 3,94(2H, d, $J=6\text{Hz}$, BocNH CH_2), 4,28-4,32(2H, m, CH_2), 4,97-5,01(2H, m, NH $\times$ 2)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 363,2; encontrado 363,2

(Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 57, se obtuvo el compuesto del título 58 (654 mg, 2,78 mmol) a partir del compuesto 57 (1,01 g, 2,78 mmol), como un semisólido viscoso blanco (rendimiento del 100%).

^1H -RMN(500MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ) 2,94-2,95(2H, m, CH_2NH_3), 3,61-3,70(4H, m, CH_2 , $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3$), 3,81(2H, sa, NH_3CH_2), 4,30-4,31(2H, m, CH_2), 8,27(3H, sa, CH_2NH_3), 8,65(3H, sa, NH_3CH_2)

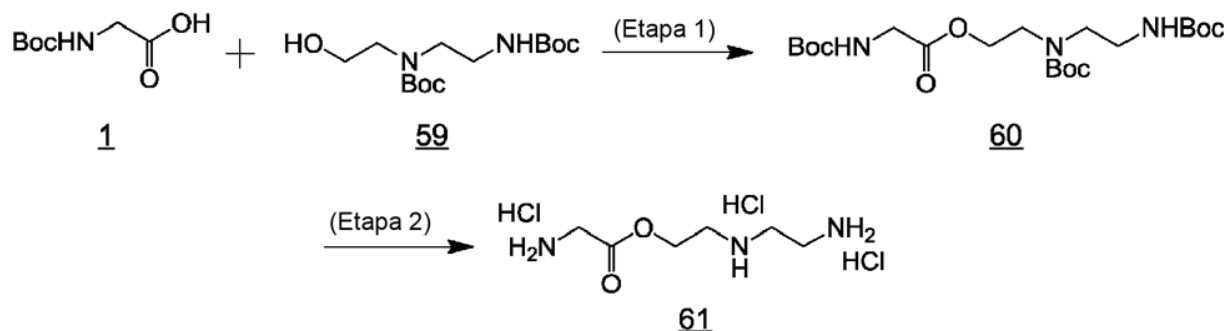
ESI-EM: calc. para $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 163,1; encontrado 163,1

Ejemplo de referencia 45

Síntesis de triclóridrato de 2-aminoacetato de 2-((2-aminoetil)amino)etilo (GlyC2NC2N) (compuesto 61)

El compuesto 61 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 25]



El compuesto 59 se sintetizó por el método descrito en Journal of Applied Polymer Science, 121 (2), (2011) 666-674.

(Etapa 1)

- 5 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-etanolamina (compuesto 2) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 59, se obtuvo el compuesto 60 (3,95 g, 8,56 mmol) a partir del compuesto 1 (1,50 g, 8,56 mmol) y el compuesto 59 (2,61 g, 8,57 mmol), como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento del 100%).

10 ^1H -RMN(500MHz, CDCl_3 , δ) 1,43-1,45(27H, m, Boc $\times$ 3), 3,27-3,35(4H, m, CH_2NHBoc , $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHBoc}$), 3,47(2H, sa, CH_2), 3,92(2H, sa, BocNH CH_2), 4,24-4,28(2H, m, CH_2), 4,66-4,99(1H, m, NHBoc), 5,22-5,30(1H, m, BocNH)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 462,3; encontrado 462,3

15 (Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 60, se obtuvo compuesto del título 61 (1,07 g, 3,97 mmol) a partir del compuesto 60 (1,83 g, 3,97 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 100%).

20 ^1H -RMN(500MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ) 3,26-3,33(6H, m, $\text{CH}_2\times 3$), 3,91(2H, s, H_3NCH_2), 4,49(2H, t, $\text{J}=5\text{Hz}$, CH_2), 8,64-10,05(8H, m, $\text{NH}_3\times 2$, NH_2)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 162,1; encontrado 162,2

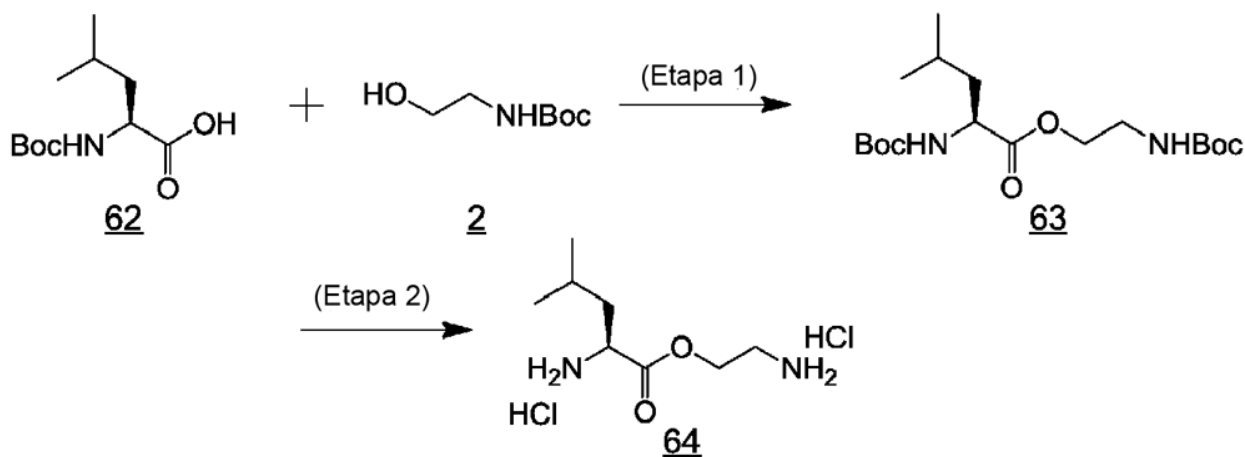
25

Ejemplo de referencia 46

Síntesis de diclorhidrato de 2-amino-4-metilpentanoato de (S)-2-aminoetilo (LeuC2N) (compuesto 64)

- 30 El compuesto 64 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 26]



35

El compuesto 62 se adquirió de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.

(Etapa 1)

- 40 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-glicina (compuesto 1) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 62, se obtuvo el compuesto 63 (4,32 g, 11,5 mmol) a partir del monohidrato del compuesto 62 (3,10 g, 12,4 mmol) y el compuesto 2 (2,00 g, 12,4 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 93%).

45 ^1H -RMN(500MHz, CDCl_3 , 55°C , δ) 0,95(3H, s), 0,96(3H, s), 1,45(18H, s), 1,50(1H, m), 1,59(1H, m), 1,70(1H, m), 3,41(2H, m), 4,16-4,27(3H, m), 4,86-4,93(2H, m)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 375,2; encontrado 375,4

50 (Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 63, se obtuvo el compuesto del título 64 (668 mg, 2,70 mmol) a partir del compuesto 63 (1,01 g, 2,70 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 100%).

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz,DMSO- d_6 , δ) 0,90(6H, dd, $J=3\text{Hz}$, 7Hz , $\text{CH}_3 \times 2$), 1,66-1,83(3H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, CHCH_2CH), 3,13(2H, t, $J=5\text{Hz}$, OCH_2), 3,98(1H, t, $J=7\text{Hz}$, NH_2CH), 4,31-4,43(2H, m, CH_2NH_3), 8,63(6H, sa, $\text{NH}_3 \times 2$)

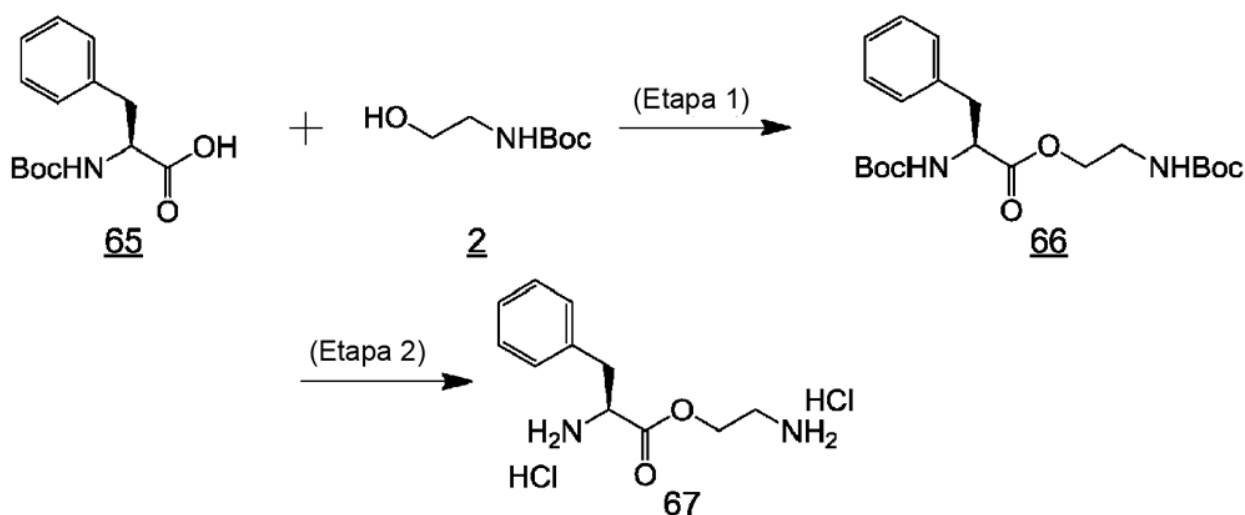
ESI-EM: calc. para $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 175,1; encontrado 175,3

Ejemplo de referencia 47

Síntesis de diclorhidrato de 2-amino-3-fenilpropanoato de (S)-2-aminoetilo (PheC2N)- (compuesto 67)

El compuesto 67 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 27]



El compuesto 65 se adquirió de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.

(Etapa 1)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-glicina (compuesto 1) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 65, se obtuvo el compuesto 66 (4,65 g, 11,4 mmol) a partir del compuesto 65 (3,29 g, 12,4 mmol) y el compuesto 2 (2,01 g, 12,5 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 92%).

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, CDCl_3 ,55°C, δ) 1,43(9H, s), 1,45(9H, s), 3,06(2H, m), 3,29(2H, m), 4,14(2H, m), 4,54(1H, m), 4,64(1H, s), 4,99(1H, d, $J=7\text{Hz}$), 7,17(2H, m), 7,24-7,33(3H, m)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 409,2; encontrado 409,4

(Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 66, se obtuvo el compuesto del título 67 (695 mg, 2,47 mmol) a partir del compuesto 66 (1,03 g, 2,53 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 98%).

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz,DMSO- d_6 , δ) 3,05-3,13(2H, m, OCH_2), 3,18-3,26(2H, m, CH_2Ph), 4,25-4,39(3H, m, NH_3CH , CH_2NH_3), 7,26-7,36(5H, m, Ph), 8,66(6H, sa, $\text{NH}_3 \times 2$)

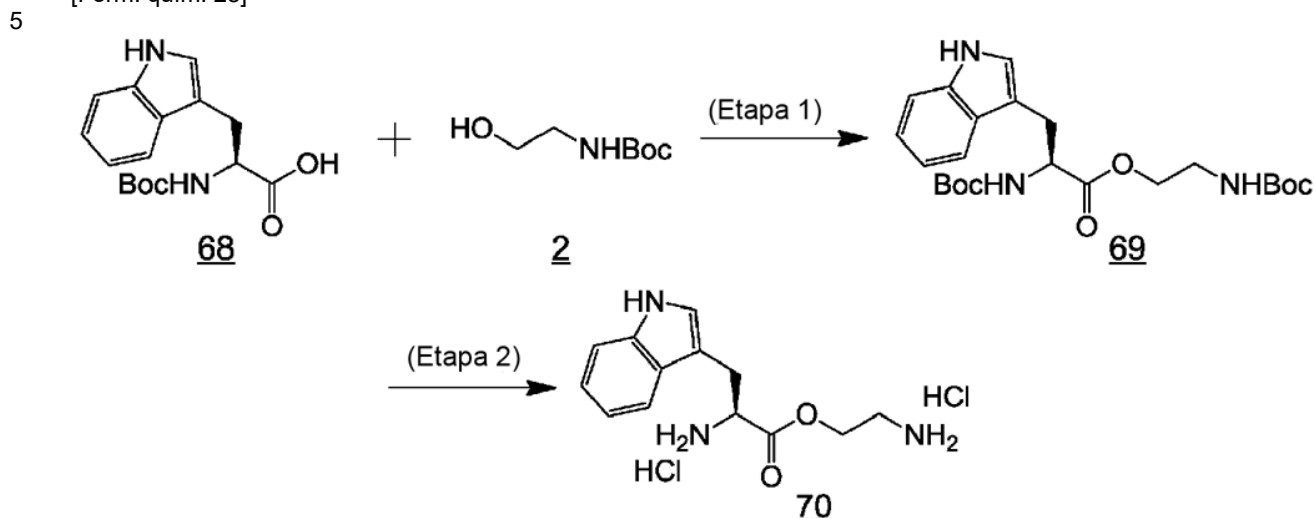
ESI-EM: calc. para $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 209,1; encontrado 209,3

Ejemplo de referencia 48

Síntesis de diclorhidrato de 2-amino-3-(1H-indol-3-il)propanoato de (S)-2-aminoetilo (TrpC2N) (compuesto 70)

El compuesto 70 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 28]



El compuesto 68 se adquirió de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.

(Etapa 1)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-glicina (compuesto 1) usado en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 68, se obtuvo el compuesto 69 (4,61 g, 10,3 mmol) a partir del compuesto 68 (3,77 g, 12,4 mmol) y el compuesto 2 (2,00 g, 12,4 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 83%).

¹H-RMN(500MHz,CDCl₃,55°C,δ) 1,43(9H, s), 1,44(9H, s), 3,26(4H, m) 4,10(2H, m), 4,61(2H, m), 5,07(1H, d, J=7Hz), 7,04(1H, d, J=2Hz), 7,14(1H, m), 7,21(1H, m), 7,37(1H, d, J=8Hz), 7,59(1H, d, J=8Hz), 8,09(1H, s)

ESI-EM: calc. para C₂₃H₃₃N₃O₆ [M+H]⁺, 448,2; encontrado 448,4

(Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 69, se obtuvo el compuesto del título 70 (725 mg, 2,26 mmol) a partir del compuesto 69 (1,01 g, 2,26 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 100%).

¹H-RMN(500MHz,DMSO-d₆,δ) 3,05-3,12(2H, m, OCH₂), 3,33-3,40(2H, m, CH₂CH), 4,21-4,37(3H, m, CH, CH₂NH₃), 7,02(1H, dt, J=8Hz, 1Hz, Ph-H), 7,10(1H, dt, J=8Hz, 1Hz, Ph-H), 7,29(1H, d, J=3Hz, HC=C), 7,38(1H, d, J=8Hz, Ph-H), 7,58(1H, d, J=8Hz, Ph-H), 8,58(6H, sa, NH₃×2), 11,09(1H, d, J=2Hz, NH)

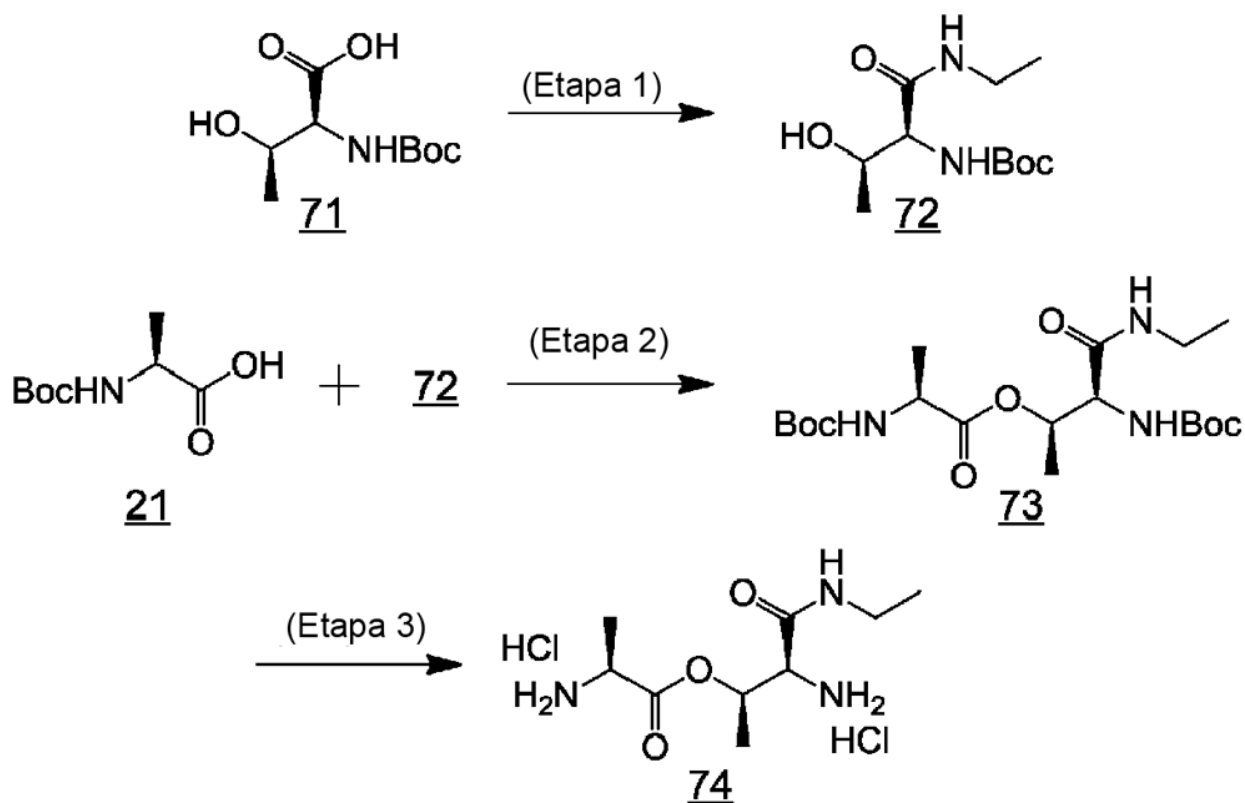
ESI-EM: calc. para C₁₃H₁₇N₃O₂ [M+H]⁺, 248,1; encontrado 248,3

Ejemplo de referencia 49

Síntesis de diclorhidrato de 2-aminopropanoato de (S)-(2R,3S)-3-amino-4-(etilamino)-4-oxobutan-2-ilo (AlaThrNH₂Et) (compuesto 74)

El compuesto 74 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 29]



El compuesto 71 se adquirió de Sigma-Aldrich.

5 (Etapas 1 y 2)

Se disolvió Boc-treonina (compuesto 71) (3,00 g, 13,7 mmol) en tetrahidrofurano (THF)/disolución acuosa de hidróxido de sodio 1,83 N = 3/1 (30 ml) a temperatura ambiente, se añadieron clorhidrato de etilamina (1,12 g, 13,7 mmol) y cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio N hidratado (DMT-MM) (6,44 g, 23,3 mmol). Además, se añadió metanol/agua = 1/4 (37,5 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Se concentró el líquido de reacción, y se añadió ácido clorhídrico 0,5 N. Se realizó la extracción con acetato de etilo. Se lavó la fase orgánica secuencialmente con disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y solución salina saturada, se secó con sulfato de sodio, y se filtró. Se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida, y se secó el residuo. Por tanto, se obtuvo el compuesto 72 (3,39 g, bruto) como un semisólido viscoso blanco.

Posteriormente, se hicieron reaccionar el compuesto 21 (2,59 g, 13,7 mmol), el compuesto 72 (3,39 g, bruto) y trietilamina (2,10 ml, 15,1 mmol) de sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-glicina (compuesto 1) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por Boc-alanina (compuesto 21), y Boc-etanolamina (compuesto 2) se reemplazó por el compuesto 72. De esta manera, se obtuvo el compuesto 73 (3,72 g, 8,92 mmol) como un compuesto amorfo blanco (rendimiento en 2 etapas: 65%).

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, CDCl_3 , δ) 1,16(3H, t, $J=8\text{Hz}$, CH_2CH_3), 1,24(3H, d, $J=7\text{Hz}$, OCHCH_3), 1,35(3H, d, $J=7\text{Hz}$, BocNHCHCH_3), 1,42-1,47(18H, m, $\text{Boc}\times 2$), 3,26-3,38(2H, m, CH_2CH_3), 4,17-4,25(2H, m, BocNHCH , CHNHoc), 4,99-5,00(1H, m, BocNH), 5,29(1H, sa, OCH), 5,50(1H, sa, NHoc), 6,17-7,00(1H, m, CONH)

ESI-EM calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_7$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 418,3; encontrado 418,3

(Etapa 3)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 73, se obtuvo el compuesto del título 74 (723 mg, 2,49 mmol) a partir del compuesto 73 (1,04 g, 2,49 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 100%).

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, DMSO-d_6 , δ) 1,06(3H, t, $J=7\text{Hz}$, CH_2CH_3), 1,29(3H, d, $J=7\text{Hz}$, OCHCH_3), 1,45(3H, d, $J=7\text{Hz}$, H_3NCHCH_3), 3,08-3,22(2H, m, CH_2CH_3), 3,98(1H, d, $J=6\text{Hz}$, CHNH_3), 4,08-4,09(1H, m, H_3NCH), 5,16(1H, dq, $J=7\text{Hz}$, OCH), 8,74-8,79(6H, m, $\text{NH}_3\times 2$), 9,04(1H, t, $J=6\text{Hz}$, CONH)

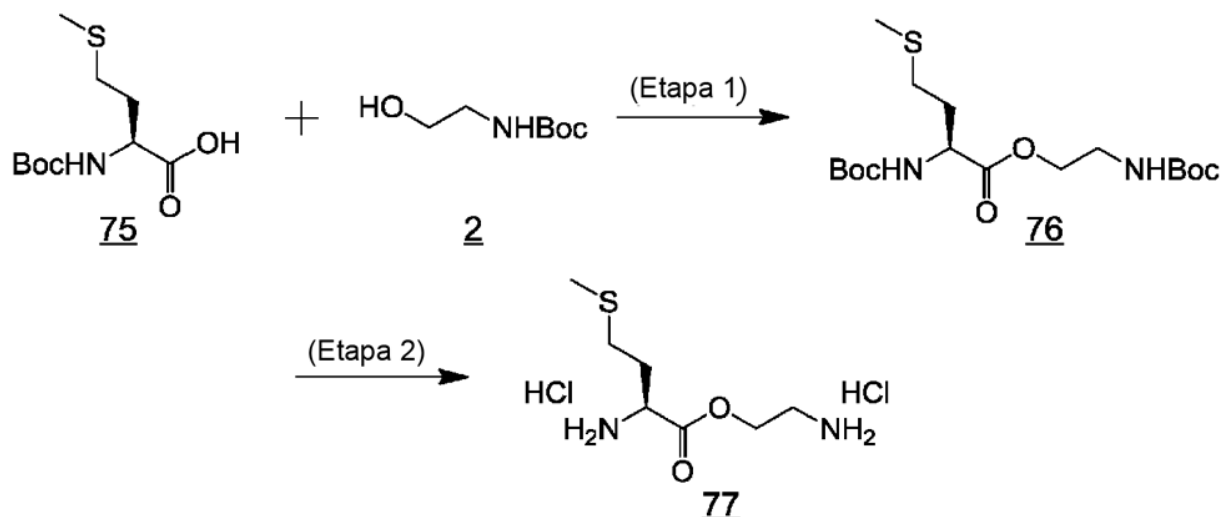
ESI-EM: calc. para $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 218,2; encontrado 218,2

Ejemplo de referencia 50Síntesis de diclorhidrato de 2-amino-4-(metiltio)butanoato de (S)-2-aminoetilo (MetC2N) (compuesto 77)

5

El compuesto 77 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 30]



10

El compuesto 75 se adquirió de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.

(Etapa 1)

15

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-glicina (compuesto 1) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 75, se obtuvo el compuesto 76 (3,06 g, 7,81 mmol) a partir del compuesto 75 (2,01 g, 8,06 mmol) y el compuesto 2 (1,30 g, 8,06 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 97%).

20

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, CDCl_3 , δ) 1,45(18H, s, Boc $\times$ 2), 1,92-1,99(1H, m, SCH_2CH), 2,11-2,16(4H, m, SCH_3 , SCH_2CH), 2,55(2H, t, $J=8\text{Hz}$, SCH_2), 3,41-3,42(2H, m, CH_2NH), 4,19-4,25(2H, m, OCH_2), 4,38-4,39(1H, m, NHCH), 4,99(1H, sa, NH(Boc)), 5,21-5,23(1H, m, BocNH)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 393,2; encontrado 393,5

(Etapa 2)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 76, se obtuvo el compuesto del título 77 (601 mg, 2,26 mmol) a partir del compuesto 76 (1,00 g, 2,56 mmol) como un semisólido viscoso blanco (rendimiento del 89%).

30

$^1\text{H-RMN}$ (500MHz, DMSO-d_6 , δ) 2,07(3H, s, Me), 2,12-2,20(2H, m, SCH_2CH_2), 2,58-2,71(2H, m, SCH_2), 3,14(2H, d, $J=5\text{Hz}$, CH_2NH_3), 4,13(1H, sa, NH_3CH), 4,33-4,44(2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3$), 8,51(3H, sa, NH_3), 8,93(3H, sa, NH_3)

35

ESI-EM: calc. para $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 193,1; encontrado 193,2

Ejemplo de referencia 51

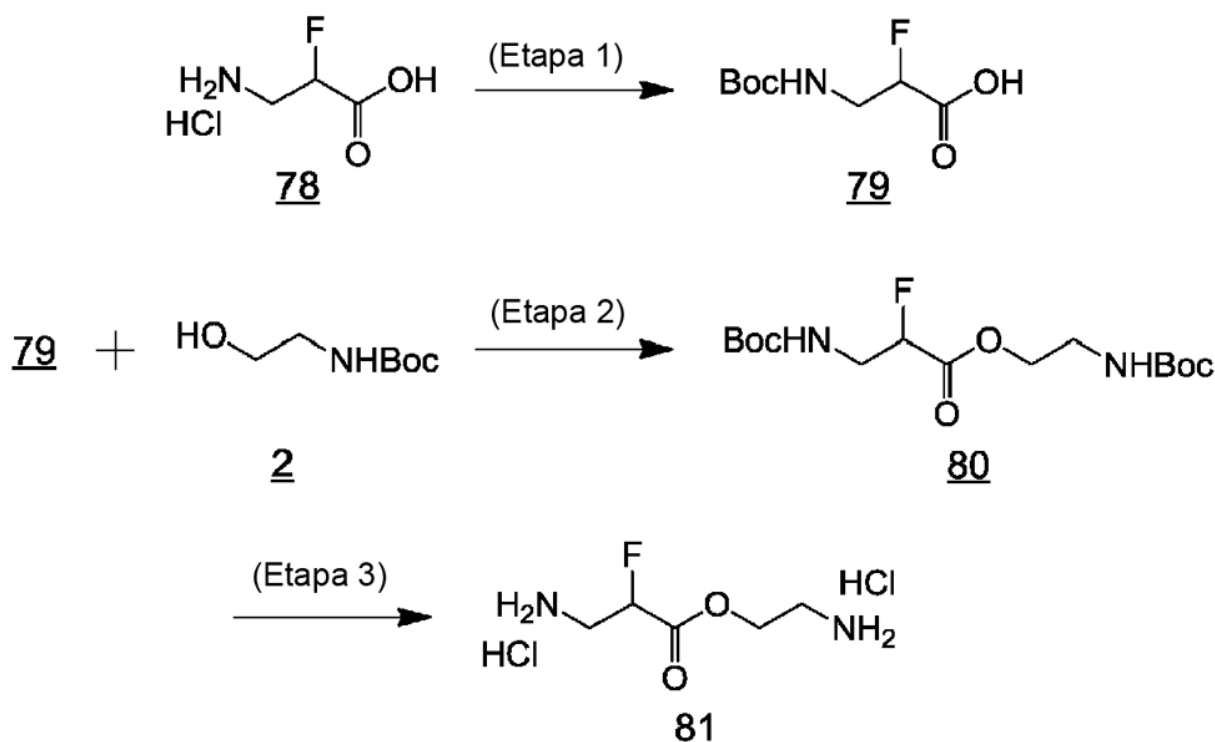
40

Síntesis de diclorhidrato de 3-amino-2-fluoropropanoato de 2-aminoetilo ($\beta\text{Ala(F)C}_2\text{N}$) (compuesto 81)

El compuesto 81 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 31]

45



El compuesto 78 se adquirió de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.

(Etapas 1 y 2)

Se disolvió el compuesto 78 (1,30 g, 9,07 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (26 ml) y disolución acuosa de hidróxido de sodio 1 N (18,1 ml). Mientras se realizaba el enfriamiento con hielo, se añadieron Boc_2O (2,08 g, 9,52 mmol) y agua (7 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche. Se concentró a vacío el líquido de reacción. Se llevó el residuo a pH 1 mediante la adición de ácido clorhídrico 1 N, y se realizó la extracción con cloroformo (150 ml x 4). Se secó la fase orgánica con sulfato de sodio, y se filtró. Se concentró a vacío el filtrado. Se secó a vacío el residuo a temperatura ambiente. Por tanto, se obtuvo el compuesto 79 (2,04 g, bruto) como un líquido viscoso transparente incoloro.

Posteriormente, de sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-glicina (compuesto 1) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 79, se obtuvo el compuesto 80 (2,21 g, 6,30 mmol) a partir del compuesto 79 (2,04 g, bruto) y el compuesto 2 (1,46 g, 9,06 mmol), como un sólido blanco (rendimiento en 2 etapas: 70%).

^1H -RMN(500MHz, CDCl_3 , δ) 1,44-1,45(18H, m, $\text{Boc} \times 2$), 3,43(2H, sa, CH_2NHBoc), 3,54-3,63(1H, m, BocNHCH), 3,81-3,85(1H, m, BocNHCH), 4,13-4,17(1H, m, OCH), 4,36-4,37(1H, m, OCH), 4,92-5,03(2H, m, CHF , BocNH), 5,44(1H, sa, NHBoc)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{FN}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 351,2; encontrado 351,2

(Etapa 3)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 80, se obtuvo el compuesto del título 81 (660 mg, 2,94 mmol) a partir del compuesto 80 (1,03 g, 2,94 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 100%).

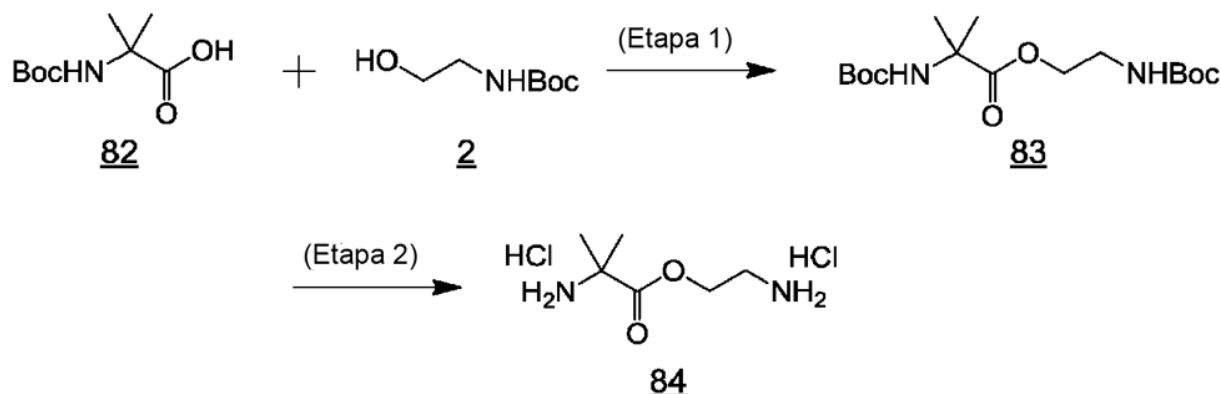
^1H -RMN(500MHz, $\text{DMSO}-d_6$, δ) 3,10-3,18(2H, m, CH_2NH_3), 3,37-3,51(2H, m, NH_3CH_2), 4,35-4,44(2H, m, OCH_2), 5,50-5,62(1H, m, CHF), 8,46-8,64(6H, m, $\text{NH}_3 \times 2$)

ESI-EM: calc. para $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 151,1; encontrado 151,1

Ejemplo de referencia 52Síntesis de diclorhidrato 2-amino-2-metilpropanoato de 2-aminoetilo ((Me)AlaC2N) (compuesto 84)

5 El compuesto 84 se sintetizó de la siguiente manera.

[Fórm. quím. 32]



10 El compuesto 82 se adquirió de Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.

(Etapa 1)

15 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) excepto que la Boc-glicina (compuesto 1) usada en el ejemplo de referencia 1 (etapa 1) se reemplazó por el compuesto 82, y se añadió adicionalmente trietilamina (2,50 ml, 17,9 mmol). Se obtuvo el compuesto 83 (2,50 g, 7,22 mmol) a partir del compuesto 82 (3,00 g, 14,8 mmol) y el compuesto 2 (2,87 g, 17,8 mmol), como un líquido viscoso transparente incoloro (rendimiento del 49%).

20 ^1H -RMN(500MHz, CDCl_3 , δ) 1,43-1,45(18H, m, Boc $\times$ 2), 1,48(6H, s, $\text{CH}_3 \times$ 2), 3,42(2H, d, $J=5\text{Jz}$, CH_2NHBoc), 4,23(2H, t, $J=5\text{Hz}$, OCH_2), 4,94(1H, sa, BocNH), 5,16(1H, sa, NHBoc)

25 ESI-EM: calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$, 347,2; encontrado 347,3

(Etapa 2)

30 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) excepto que el compuesto 19 usado en el ejemplo de referencia 6 (etapa 2) se reemplazó por el compuesto 83, se obtuvo el compuesto del título 84 (587 mg, 2,68 mmol) a partir del compuesto 83 (939 mg, 2,71 mmol), como un sólido blanco (rendimiento del 99%).

^1H -RMN(500MHz, DMSO- d_6 , δ) 1,53(6H, s, $\text{CH}_3 \times$ 2), 3,15(2H, t, $J=5\text{Hz}$, CH_2), 4,34-4,36(2H, m, CH_2), 8,29-8,77(6H, sa, $\text{NH}_3 \times$ 2)

35 ESI-EM: calc. para $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 147,1; encontrado 147,1

Ejemplo 53Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 37 (CS-GlyPhC2N)

40 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 37 (sintetizado en el ejemplo de referencia 12), el equivalente de compuesto 37 fue de (0,030, 0,040 ó 0,050 eq.), y se cambió la cantidad de CS a 0,80 g, se obtuvieron productos de CS reticulados (CS-GlyPhC2N) como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,65 g).

Ejemplo 54Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 42 (CS-GlilacC2N)

De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 42 (sintetizado en el ejemplo de referencia 13), el equivalente de compuesto 42 fue de (0,040, 0,050 ó 0,060 eq.), y se cambió la cantidad de CS a 0,80 g, se obtuvieron los productos de CS reticulados (CS-GlilacC2N) como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,78 g).

5

Ejemplo 55

Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 52 (CS-OctHomoSerEt)

10 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 52 (sintetizado en el ejemplo de referencia 16), el equivalente de compuesto 52 fue de (0,060, 0,080 ó 0,100 eq.), y se cambió la cantidad de CS a 0,80 g, se obtuvieron productos de CS reticulados (CS-OctHomo-SerEt) como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,62 g).

15 Ejemplo 56

Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 81 (CS-βAla(F)C2N)

20 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 81 (sintetizado en el ejemplo de referencia 51), el equivalente de compuesto 81 fue de (0,030, 0,040 ó 0,050 eq.), y se cambió la cantidad de CS a 0,80 g, se obtuvieron productos de CS reticulados (CS-βAla(F)C2N) un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,69 g).

Ejemplo 57

25

Preparación de sulfato de condroitina reticulado con compuesto 84 (CS-(Me)AlaC2N)

30 De sustancialmente la misma manera que en el ejemplo 17 (método A) excepto que el compuesto 7 usado en el ejemplo 17 (método A) se reemplazó por el compuesto 84 (sintetizado en el ejemplo de referencia 52), el equivalente de compuesto 84 fue de (0,100 ó 0,300 eq.), y se cambió la cantidad de CS a 0,80 g, se obtuvieron productos de CS reticulados (CS-(Me)AlaC2N) como un polvo blanco (en cada caso aproximadamente 0,61 g).

REIVINDICACIONES

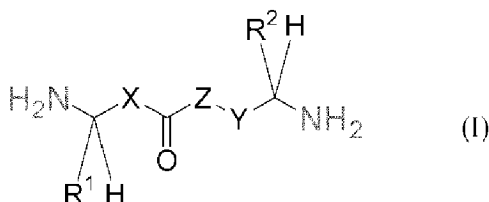
1. Polisacárido ácido reticulado obtenido formando reticulaciones mediante un enlace amida entre grupos amino primarios en un agente de reticulación de diamina y grupos carboxilo en un polisacárido ácido;

en el que el polisacárido ácido es sulfato de condroitina; y

en el que el agente de reticulación de diamina es un compuesto de diamina que tiene los grupos amino primarios en ambos extremos terminales y un enlace éster o tioéster en la molécula de manera que el carbono carbonílico del éster o tioéster está en una cadena lineal que conecta los dos grupos amino terminales, en el que el número de átomos en la cadena lineal entre al menos uno de los grupos amino y el carbono carbonílico en el éster o tioéster es de 1 a 5.

2. Polisacárido ácido reticulado según la reivindicación 1, en el que el agente de reticulación de diamina se representa por la fórmula general (I) a continuación:

[Fórm. quím. 33]



en la que el número de átomos en la cadena lineal entre los grupos amino primarios en ambos extremos terminales es de 5 a 12,

X e Y son cada uno independientemente un enlace sencillo, un grupo alquileo sustituido o no sustituido, un grupo alquenileno sustituido o no sustituido o un grupo alquinileno sustituido o no sustituido, con la condición de que X e Y no pueden ser enlaces sencillos al mismo tiempo;

Z representa un átomo de oxígeno o un átomo de azufre, preferiblemente un átomo de oxígeno;

R¹ y R² son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo -CONR³R⁴, un grupo -COOR⁵, un grupo alquilo sustituido o no sustituido, un grupo alquenilo sustituido o no sustituido o grupo alquinilo sustituido o no sustituido;

cualquier -CH₂- en el grupo alquileo, grupo alquenileno o grupo alquinileno representado por X o Y puede sustituirse con uno o más grupos seleccionados del grupo que consiste en grupo amida (-CONH-), grupo éster (-C(=O)-O-), grupo éter (-O-), grupo imino (-NH-) y grupo fenileno, en el que cualquier grupo éster, grupo amida, grupo éter (-O-) y grupo imino (-NH-) presentes en X o Y no pueden estar directamente adyacentes a -CO-Z- en la fórmula (I),

cualquier -CH₂- en el grupo alquilo, grupo alquenilo o grupo alquinilo representado por R¹ o R² puede sustituirse con uno o más grupos seleccionados del grupo que consiste en >C=O, -CONH-, arileno, -O-, -NR⁶- y -S-;

los sustituyentes en X, Y, R¹ y R² se seleccionan del grupo que consiste en grupos hidroxilo, grupos alquilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, grupos fenilo, grupos indolilo, grupos diazolilo, grupos -(CH₂)_n-NHMe, grupos -(CH₂)_n-NMe₂, grupos -(CH₂)_n-CONR³R⁴, grupos -(CH₂)_n-COOR⁵, grupos -S-Me y grupos -SH, y los sustituyentes en X e Y pueden seleccionarse del grupo que consiste en grupos 4-hidroxifenilo, átomos de halógeno, grupos nitro y grupos nitrilo, en el que n representa independientemente en cada caso un número entero de 0 a 4; y

R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo opcionalmente sustituido con grupo fenilo.

3. Polisacárido ácido reticulado según la reivindicación 2, en el que el número de átomos en la cadena lineal entre los grupos amino en ambos extremos terminales es de 5 a 8.

4. Polisacárido ácido reticulado según la reivindicación 2, en el que el número de átomos en la cadena lineal entre los grupos amino en ambos extremos terminales es de 5 ó 6.

5. Polisacárido ácido reticulado según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en el que

R^1 es un átomo de hidrógeno, o un grupo alquilo sustituido o no sustituido;

R^2 es un átomo de hidrógeno, un grupo $-\text{CONR}^3\text{R}^4$ o un grupo $-\text{COOR}^5$;

X es un enlace sencillo o un grupo alquileo que puede sustituirse con halógeno;

Y es un grupo alquileo sustituido o no sustituido;

el/los sustituyente(s) en R^1 se selecciona(n) del grupo que consiste en grupos metilo, grupos fenilo, grupos indolilo, grupos $-\text{COOR}^5$ y grupos $-\text{S-Me}$; y

el/los sustituyente(s) en Y se selecciona(n) del grupo que consiste en grupos metilo, grupos fenilo y grupos $-\text{COOR}^5$.

6. Polisacárido ácido reticulado según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en el que

X es un enlace sencillo;

Y es un grupo $>\text{CR}^7\text{R}^8$; y

R^7 y R^8 son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo hidroxilo, un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, un grupo indolilo, un grupo diazolilo, un grupo $-(\text{CH}_2)_n-\text{NHMe}$, un grupo $-(\text{CH}_2)_n-\text{NMe}_2$, un grupo $-(\text{CH}_2)_n-\text{CONR}^3\text{R}^4$, un grupo $-(\text{CH}_2)_n-\text{COOR}^5$, un grupo $-\text{SH}$, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo.

7. Polisacárido ácido reticulado según la reivindicación 6, en el que

R^2 es un grupo $-\text{CONR}^3\text{R}^4$ o un grupo $-\text{COOR}^5$;

R^7 es un átomo de hidrógeno; y

R^8 es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo.

8. Polisacárido ácido reticulado según la reivindicación 3 ó 4, en el que al menos uno de X e Y se sustituye con un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, un grupo $-\text{CONR}^3\text{R}^4$, un grupo $-\text{COOR}^5$, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo.

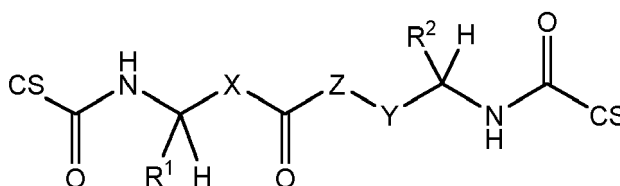
9. Polisacárido ácido reticulado según la reivindicación 6, en el que R^7 y R^8 son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, un grupo $-\text{CONR}^3\text{R}^4$, un grupo $-\text{COOR}^5$, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo.

10. Polisacárido ácido reticulado según la reivindicación 9, en el que R^1 es un átomo de hidrógeno, un grupo $-(\text{CH}_2)_2-\text{S-CH}_3$, un grupo $-(\text{CH}_2)_{3 \text{ ó } 4}-\text{NHMe}$, un grupo $-(\text{CH}_2)_{3 \text{ ó } 4}-\text{NMe}_2$ o un grupo $-(\text{CH}_2)_{1 \text{ ó } 2}-\text{COOR}^5$.

11. Polisacárido ácido reticulado según la reivindicación 10, en el que R^2 es un grupo $-\text{CONR}^3\text{R}^4$ o un grupo $-\text{COOR}^5$, y R^7 y R^8 son átomos de hidrógeno.

12. Polisacárido ácido reticulado según la reivindicación 11, en el que R^1 es un átomo de hidrógeno.

13. Polisacárido ácido reticulado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, representado por la fórmula general a continuación:



en la que CS es una estructura en la que un grupo carboxilo se excluye del sulfato de condroitina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

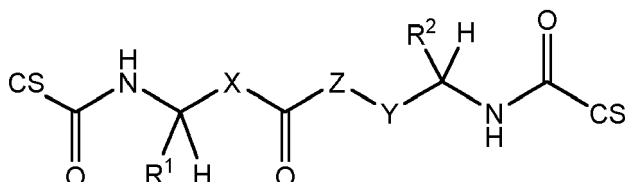
dos CS en la fórmula anterior son una misma molécula o moléculas diferentes del sulfato de condroitina,

X, Y, Z, R¹ a R⁶ son tal como se definen según la reivindicación 2,

el número de átomos en la cadena lineal entre los grupos amino en ambos extremos terminales es de 5 a 8,

al menos uno de X e Y se sustituye con un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, un grupo -CONR³R⁴, un grupo -COOR⁵, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo.

14. Polisacárido ácido reticulado o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, representado por la fórmula general a continuación:



en la que CS es una estructura en la que un grupo carboxilo se excluye del sulfato de condroitina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

dos CS en la fórmula anterior son una misma molécula o moléculas diferentes del sulfato de condroitina,

Z, R¹ a R⁶ son tal como se definen según la reivindicación 2,

el número de átomos en la cadena lineal entre los grupos amino primarios en ambos extremos terminales es de 5 a 12,

X es un enlace sencillo;

Y es un grupo >CR⁷R⁸, y

R⁷ y R⁸ son cada uno independientemente un átomo de hidrógeno, un grupo fenilo, un grupo 4-hidroxifenilo, un grupo -CONR³R⁴, un grupo -COOR⁵, un átomo de halógeno, un grupo nitro o un grupo nitrilo.

15. Polisacárido ácido reticulado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el peso molecular promedio en peso del sulfato de condroitina es de 10.000 a 100.000.
16. Material médico que comprende el polisacárido ácido reticulado descrito en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15.
17. Material de relleno tisular que comprende el polisacárido ácido reticulado descrito en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15.
18. Material que impide la adhesión que comprende el polisacárido ácido reticulado descrito en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15.

Fig. 1

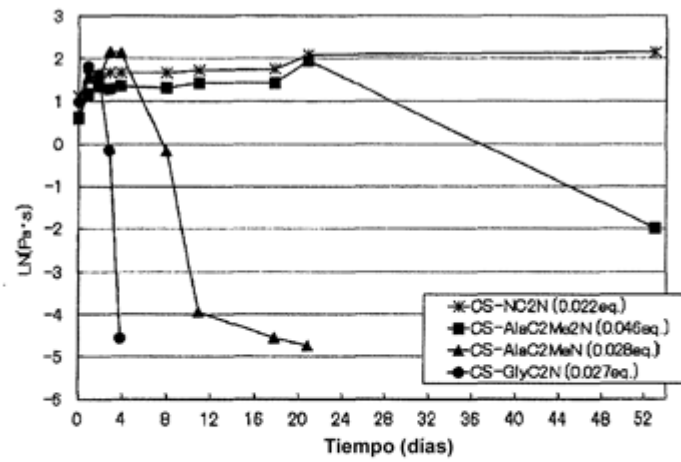


Fig. 2

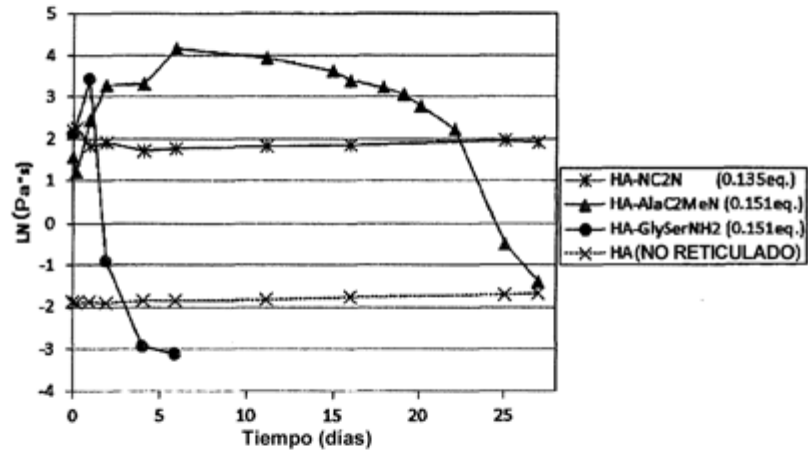


Fig. 3

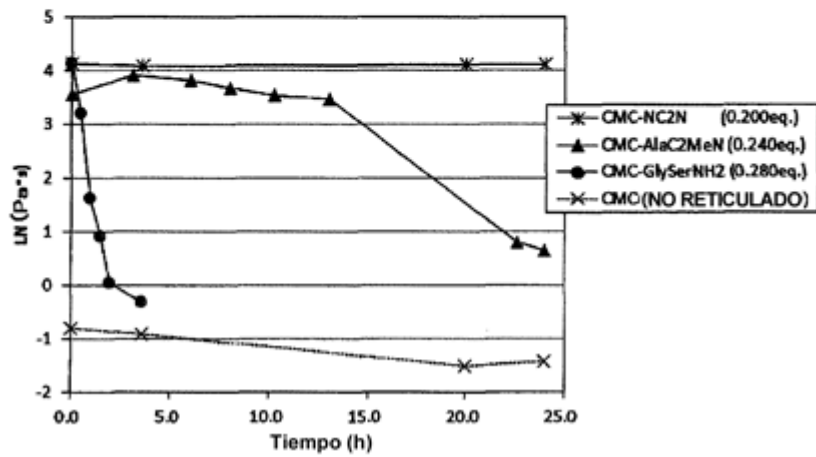


Fig. 4

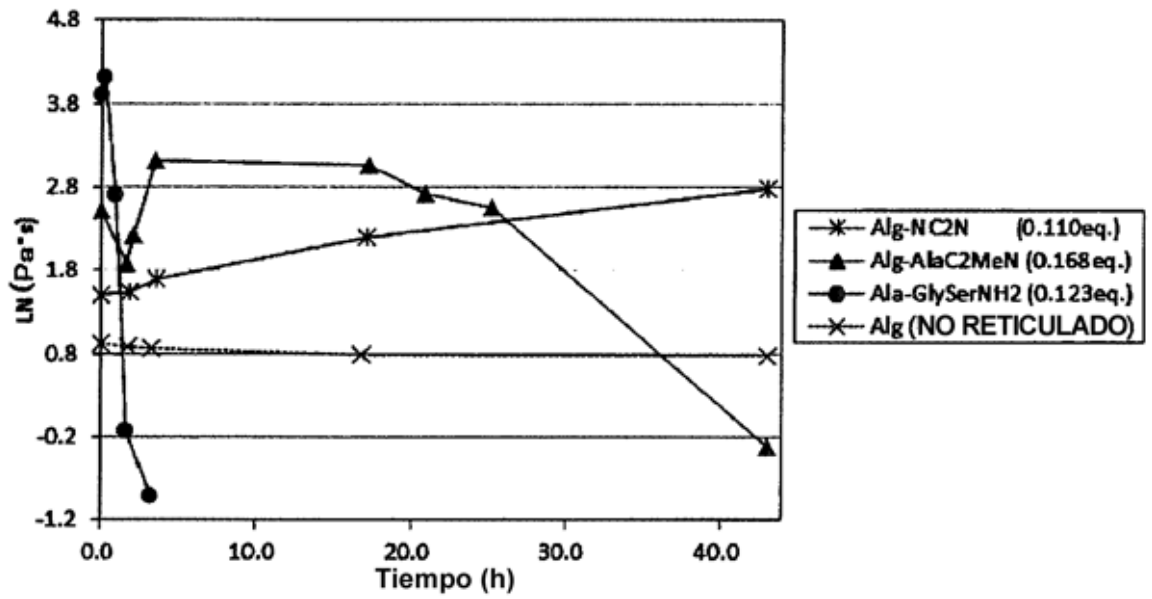


Fig. 5

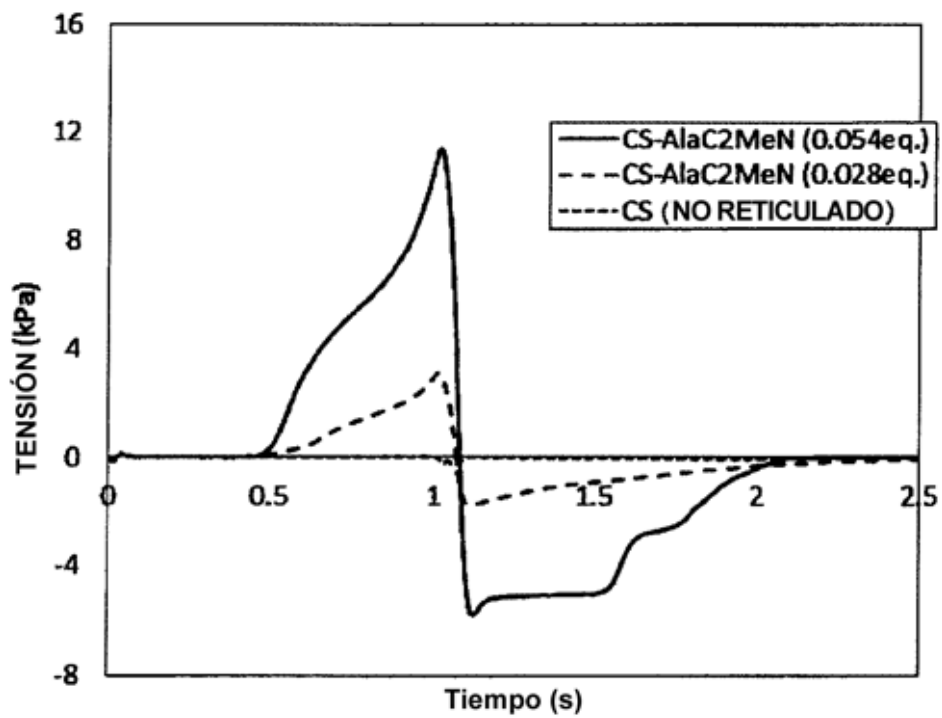


Fig. 6

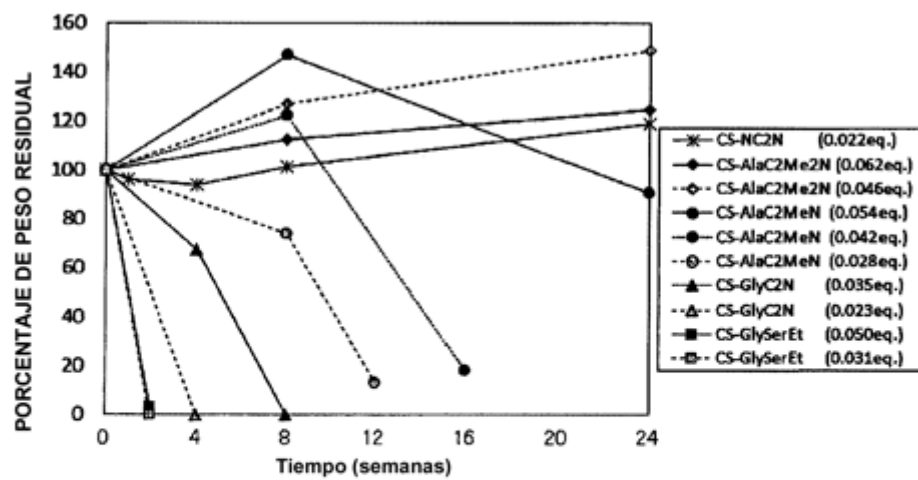


Fig. 7

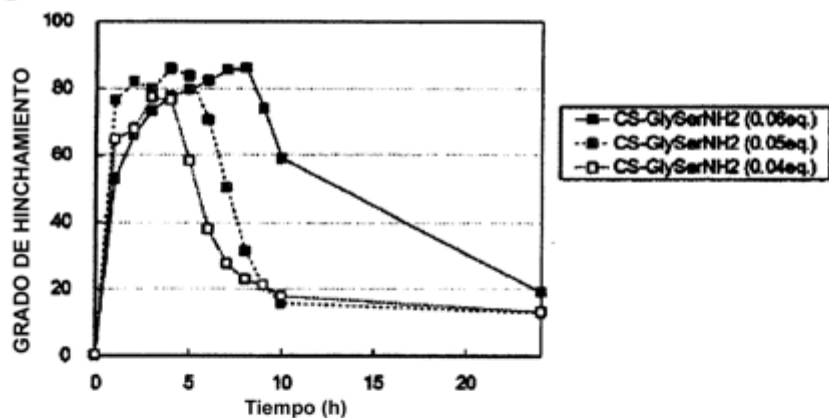


Fig. 8

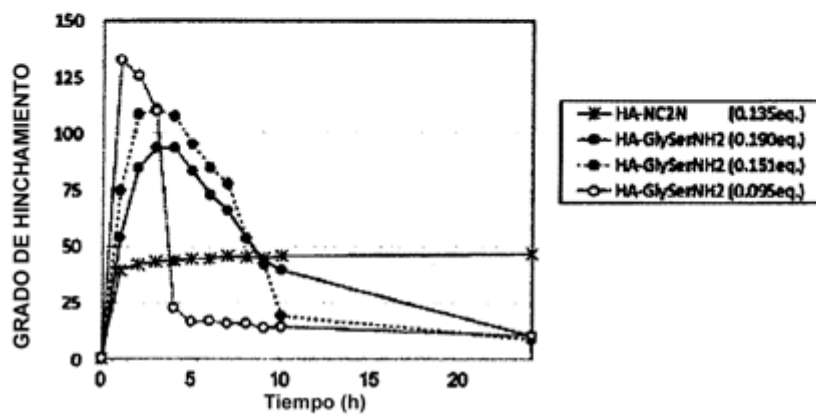


Fig. 9

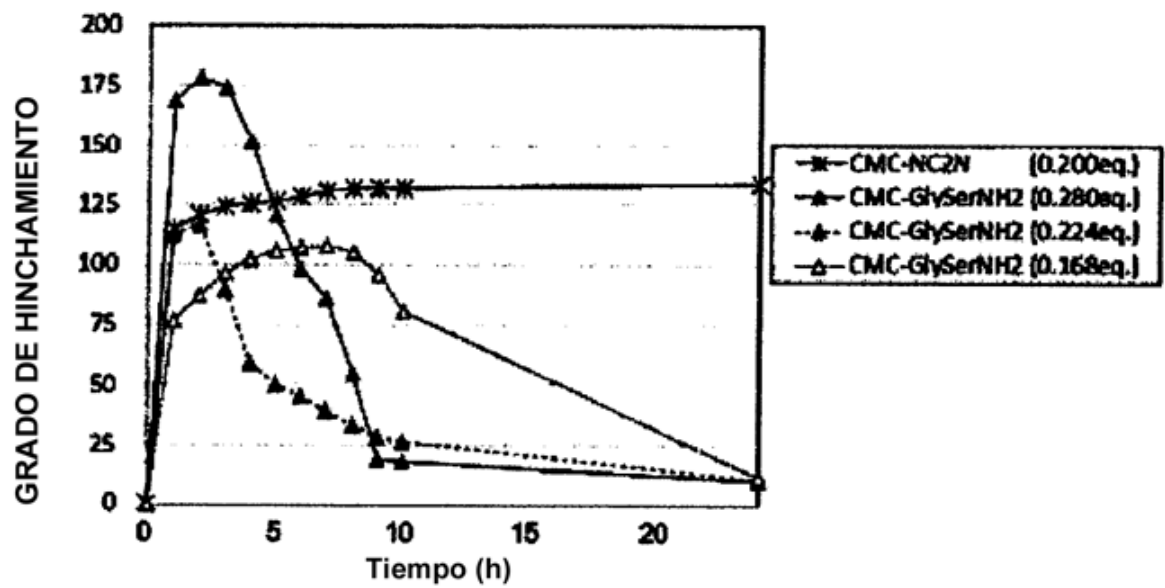


Fig. 10

