



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101990900142984
Data Deposito	05/10/1990
Data Pubblicazione	05/04/1992

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	08	B		

Titolo

DERIVATI CATIONIZZATI DI POLISACCARIDI E LORO PROCEDIMENTO DI PREPARAZIONE
--

Descrizione dell'Invenzione Industriale dal titolo:

"Derivati cationizzati di polisaccaridi e loro procedimento di preparazione."

a nome FARMHISPANIA S.A.

con sede in BARCELLONA -SPAGNA-

Inventori Designati: BUTELMAN Federico, MASSOLI Alberto

* * *

DESCRIZIONE

5 OTT. 1990

2166 3A/90

A. Settore Tecnico

La presente invenzione si riferisce a derivati di polisaccaridi aventi una catena laterale legata al nucleo glucosidico mediante un atomo di azoto o di ossigeno o un gruppo carbossilico o un gruppo ammidico, detta catena essendo priva di gruppi ossidrilici e cationizzata, ed al relativo procedimento di preparazione.

Nel presente testo, con il termine "cationizzato" si intende indicare la presenza nella catena laterale di uno o più atomi di azoto quaternario, aventi quindi una carica positiva, i quali permettono la salificazione con anioni di acidi.

Esistono molti derivati di polisaccaridi naturali, sia descritti nella letteratura tecnica e brevettuale che impiegati in commercio ed è in atto una continua ricerca di nuovi prodotti e di nuovi procedimenti di preparazione, dato che detti derivati hanno molte applicazioni di largo interesse.

Derivati, cationizzati o no, dei polisaccaridi sono infatti

utili come agenti ipocolesterolemizzanti, come tensioattivi, come collanti o addensanti nei settori farmaceutico, cosmetico, degli inchiostri e della carta.

B. Problema tecnico

Un problema particolarmente importante da risolvere nei procedimenti di preparazione dei derivati dei polisaccaridi naturali è costituito dal grado di purezza dei prodotti finali che si ottengono.

I polisaccaridi sono prodotti di origine naturale e quasi sempre contengono tracce di sostanze contaminanti che sono difficilmente eliminabili e spesso si trovano anche nel prodotto finito, al quale conferiscono colori ed odori non desiderati con evidente pregiudizio della qualità del prodotto.

Questo problema è particolarmente grave nel caso il prodotto finale debba essere utilizzato per scopi farmaceutici, come ad esempio nel caso di derivati cationizzati del chitosano che sono utilizzati come agenti ipocolesterolemizzanti.

E' inoltre importante disporre di metodi sintetici aventi caratteristiche di industrialità: uno degli aspetti di questo problema è quello di limitare l'uso di solventi organici, sostituendoli dove possibile con acqua, che oltre ad essere molto meno costosa dei solventi organici, ha il vantaggio di non costituire di per sé un inquinante ambientale.

C. La tecnica anteriore

I derivati cationizzati dei polisaccaridi naturali maggiormente

descritti in letteratura hanno una o più catene laterali legate al nucleo glucosidico mediante un atomo di azoto o di ossigeno. La caratteristica comune di tali catene è che in tutte è presente un gruppo ossidrile che deriva dal fatto che nei procedimenti utilizzati per la loro preparazione vengono quasi sempre utilizzati derivati epossidici, reattivi di normale impiego industriale.

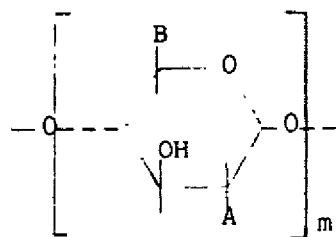
Oltre a numerose pubblicazioni e brevetti nei quali vengono descritti derivati dei polisaccaridi, la loro preparazione ed i loro usi, la stessa Richiedente ha descritto in suoi precedenti brevetti alcune classi di derivati di numerosi polisaccaridi, in particolare del chitosano, la loro preparazione ed il loro utilizzo.

In particolare si intende qui fare riferimento ai brevetti EP 65491, EP-212145, alla domanda di brevetto Europeo EP-A-319645 e al brevetto USA 4,436,731.

D. Descrizione particolareggiata dell'invenzione

La presente invenzione si riferisce a derivati di polisaccaridi aventi una catena laterale legata al nucleo glucosidico mediante un atomo di azoto o di ossigeno o un gruppo carbossilico o un gruppo ammidico, detta catena essendo priva di gruppi ossidrilici e cationizzata, ed al relativo procedimento di preparazione.

I derivati cationizzati di polisaccaridi secondo l'invenzione possono essere rappresentati dalla seguente formula generale



(I)

in cui:

- m è un numero intero compreso tra 50 e 5000

- A significa:

- OH , -NH₂ , NHCOR ;- NH-CH₂-(CH₂)_a-NR⁽⁺⁾₁R²R³X⁽⁻⁾;- NH-CHR-(CH₂)_a-NR⁽⁺⁾₁R²R³X⁽⁻⁾;- NH-(CH₂)_a-CHR-(CH₂)_b-NR⁽⁺⁾₁R²R³X⁽⁻⁾;- NH-CH₂-(CH₂)_b-NR-(CH₂)_a-CH₂-NR⁽⁺⁾₁R²R³X⁽⁻⁾;- [NR⁽⁺⁾₄R⁵-CH₂-(CH₂)_a-NR⁽⁺⁾₁R²R³] 2 X⁽⁻⁾;- [-NH-CH₂-(CH₂)_a-NR⁽⁺⁾₄R⁵-CH₂-(CH₂)_b-NR⁽⁺⁾₁R²R³] 2 X⁽⁻⁾;- NHCOCH₂-(CH₂)_a-NR⁽⁺⁾₁R²R³X⁽⁻⁾;- NH-CH₂-(CH₂)_b-NHCOCH₂-(CH₂)_a-NR⁽⁺⁾₁R²R³X⁽⁻⁾;- [NR⁽⁺⁾₄R⁵-CH₂-(CH₂)_a-NHCO-CH₂-(CH₂)_b-NR⁽⁺⁾₁R²R³] 2 X⁽⁻⁾;

- B significa:

- CH₂OH, -CH₂OR, -COOR, -COOH,- CO-NR-(CH₂)_a-NR⁽⁺⁾₁R²R³X⁽⁻⁾;

- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_a\text{-CH}_2\text{-NR}^{(+)}_1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;
- $\text{CH}_2\text{-O-CHR-(CH}_2\text{)}_a\text{-NR}^{(+)}_1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;
- $\text{CH}_2\text{-O-(CH}_2\text{)}_a\text{-CHR-(CH}_2\text{)}_b\text{-NR}^{(+)}_1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;
- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_a\text{-NR-(CH}_2\text{)}_b\text{-CH}_2\text{-NR}^{(+)}_1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;
- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_a\text{-NR}^{(+)}_4\text{R}^5\text{-(CH}_2\text{)}_b\text{-CH}_2\text{-NR}^{(+)}_1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

dove a e b possono essere uguali o diversi fra loro e sono numeri interi compresi fra 1 e 20;

R, R¹, R², R³, R⁴, R⁵ possono essere uguali o diversi fra loro e significano idrogeno, alchile lineare o ramificato avente da 1 a 30 atomi di carbonio, arile o alchilarile;

X⁽⁻⁾ è un anione scelto nel gruppo costituito da Cl⁻, Br⁻, I⁻, HSO₄⁻, CH₃OSO₃⁻, NO₃⁻, C₂H₅-O-SO₃⁻, HCO₃⁻.

Secondo una caratteristica fondamentale della presente invenzione, i composti rappresentati dalla formula (I) sono preparati dai polisaccaridi naturali mediante un procedimento comprendente i seguenti stadi essenziali:

- a) pretrattamento del polisaccaride in un mezzo acidificato con un acido scelto nel gruppo costituito da acido cloridrico, acido solforico, acido formico, acido acetico, eventualmente comprendente una fase di purificazione per ultrafiltrazione;
- b) introduzione nella molecola del polisaccaride pretrattato di almeno una catena alchilica o acilica in cui è già presente un

atomo di azoto quaternario o comunque un gruppo amminico che può essere successivamente trasformato nel gruppo ammonico quaternario, mediante reazione con il relativo alogenuro in ambiente acquoso, ad una temperatura compresa fra 20°C e 150°C, per un tempo compreso fra 2 ore e 24 ore.

c) purificazione del prodotto ottenuto mediante ultrafiltrazione su membrane con taglio dei pesi molecolari (cut-off) superiori a 10.000 e liofilizzazione dell'ultrafiltrato con ottenimento del prodotto finale in polvere.

Il pretrattamento del polisaccaride di partenza può comprendere anche una solubilizzazione in solvente acquoso ed una riprecipitazione del polisaccaride in forma amorfa e l'ossidazione di un gruppo alcolico primario del nucleo glucosidico a carbossile in modo da poter unire la catena laterale cationizzata a detto nucleo mediante un ponte di tipo estere.

Il pretrattamento ha essenzialmente lo scopo di idrolizzare parzialmente il polisaccaride, riducendone la complessità molecolare, aumentandone la reattività e trasformando in composti facilmente eliminabili nei successivi trattamenti di purificazione le eventuali impurezze di origine naturale presenti, che potrebbero pregiudicare la qualità dei prodotti finali ottenuti.

Nelle forme di realizzazione preferite della presente invenzione, tutto il procedimento avviene essenzialmente in ambiente acquoso.

Nel caso l'alogenuro utilizzato nello stadio b) sia solido o insolubile in acqua è comunque possibile utilizzare il procedimento descritto senza alterarne le caratteristiche essenziali, sciogliendo detto agente nella minima quantità possibile di un appropriato solvente organico nel quale esso sia solubile.

Polisaccaridi particolarmente adatti per essere trattati con il procedimento secondo l'invenzione sono: il chitosano, la cellulosa, l'amido, il tragacanto, la farina di carrube, il guar ed il tamarindo.

Uno dei vantaggi fondamentali dell'impiego dell'acqua come ambiente di reazione in tutte le fasi del procedimento secondo l'invenzione, consiste nel poter effettuare le operazioni di purificazione per ultrafiltrazione, senza dover recuperare il prodotto da solventi diversi.

Nelle forme di realizzazione preferite dell'invenzione, il rapporto molare fra il polisaccaride trattato e l'alogenuro varia fra 1:1 e 1:20.

Facendo particolare riferimento al chitosano (I, dove $A=NH_2$ e $B=CH_2OH$), il pretrattamento secondo l'invenzione viene effettuato trattando una sospensione acquosa di chitosano, contenente da 30 a 90 g di chitosano per litro di acqua, ad una temperatura compresa fra $5^{\circ}C$ e $40^{\circ}C$ e per un tempo compreso fra 1 ora e 20 ore, con una soluzione acquosa di un acido scelto nel gruppo costituito da acido cloridrico, acido solforico, acido formico, acido acetico, la quantità di detto acido essendo compresa fra 1

e 3 moli di acido per mole di chitosano, in presenza di un nitrito alcalino, in quantità compresa fra l'1 e il 3% molare rispetto al chitosano, fino a completa solubilizzazione del chitosano di partenza; ultrafiltrando la soluzione così ottenuta mediante membrane con taglio dei pesi molecolari (cutoff) superiori a 10.000 ad una temperatura compresa fra 20 e 40°C ed una pressione compresa fra 4 e 8 bar; portando la concentrazione dell'ultrafiltrato fino ad un contenuto di chitosano compreso fra 5 e 15 grammi % di soluzione e neutralizzando la soluzione concentrata con sodio bicarbonato solido con formazione di una sospensione acquosa.

ESEMPIO 1

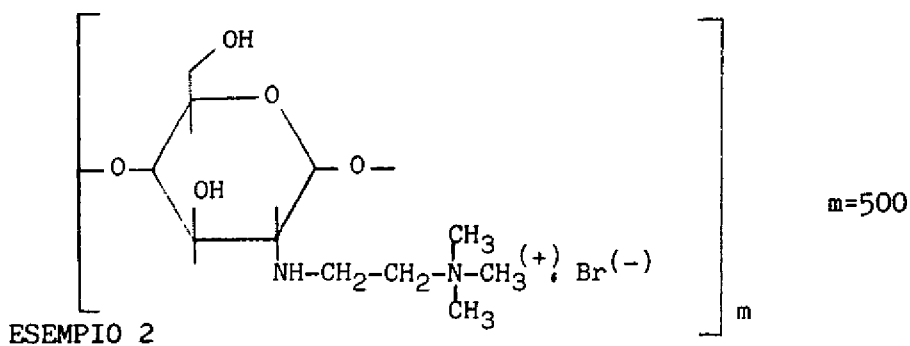
gr 80 di chitosano Flonac N (marchio con il quale viene commercializzato dalla Kyowa un chitosano avente un grado di deacetilazione pari all'80%) pari a 0.47 moli, si sospendono in 2.0 lt di acqua distillata, si aggiungono gr. 1.0 di sodio nitrito (0.0118 moli) e ml 50.0 di acido acetico 80% p/v (0.70 moli). Si lascia agitare per una notte a temperatura ambiente e si ultrafiltra su membrana da 100.000 daltons sino ad una conducibilità dell'ultrafiltrato come quella dell'acqua utilizzata. Si concentra quindi la soluzione ad 1.0 litro, si neutralizza cautamente con sodio bicarbonato solido ed alla sospensione si aggiungono gr. 350 di 2-bromoetil-trimetilammonio bromuro (1.47 moli) disciolti in 300 ml di acqua. Si scalda sotto agitazione e flusso di azoto per 6 h a 100°C. Terminato il tempo

di reazione si diluisce a 5 litri si filtra su celite e si ultrafiltra poi su membrana di pulisulfone (superficie 0.1 m^2 , cut-off 100.000 daltons) ad una pressione di 2.5 bar fino a scomparsa di ioni $\text{Br}^{(-)}$ nell'ultrafiltrato e conducibilità come quella dell'acqua utilizzata. Si concentra fino a 2.0 lt e si liofilizza.

Vengono ottenuti g 129.55 di prodotto solubile in H_2O che all'analisi elementare dette i seguenti risultati:

C = 42.43 % H = 6.87 % N = 8.25 % Br = 15.65 %

La struttura del composto ottenuto, determinata mediante ^{13}C -NMR risultò essere la seguente:



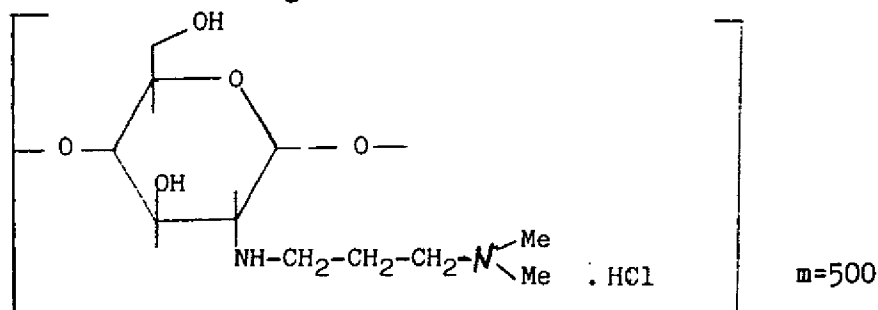
gr. 80.0 di chitosano, pari a 0.47 moli, trattati come nell'esempio 1 fino a neutralizzazione con sodio bicarbonato, sono fatti reagire con 3-cloro-propil-dimetilamino cloridrato (DMPC) (g 445.3, 2.82 moli) disciolti in 300 ml di acqua. Si lascia reagire per 10 h a 80°C sotto flusso di azoto. Si filtra su setto poroso dopo raffreddamento, si diluisce a 5.0 lt e si ultrafiltra su membrana di polisulfone con cut-off di 100.000 daltons e superficie di 0.1 m^2 . Si ultrafiltra come nell'esempio

1, quindi si concentra a 2.0 lt e si liofilizza.

Vengono ottenuti g 111.3 di un prodotto che all'analisi elementare dette i seguenti risultati:

C = 46.35 % H = 7.48 % N = 9.01 % Cl = 7.02 %

La struttura del composto ottenuto, determinata mediante ^{13}C -NMR risultò essere la seguente:



ESEMPIO 3

A 80 gr di chitosano (0.47 moli) pretrattati come nell'esempio 1 fino a ultrafiltrazione e concentrazione della soluzione, viene aggiunto 1.0 lt di soluzione acquosa satura di sodio bicarbonato. Si agita a temperatura ambiente il sistema per omogeneizzarlo quindi si aggiungono g 880.0 (4.7 moli) di cloruro acido di betaina, esente da tracce di cloruro di tionile, disciolti in 1.0 lt di cloruro di metilene.

L'addizione del cloruro di acido viene fatta durare 8 h e quindi la reazione prosegue a temperatura ambiente per altre 16 h avendo cura che il pH si mantenga sempre superiore a 8.

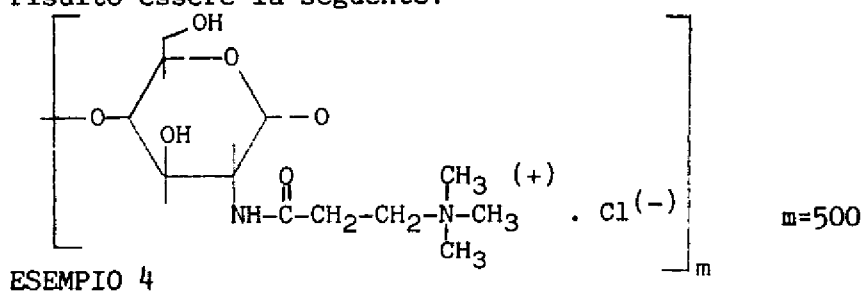
Si filtra la emulsione ottenuta, si diluisce a 7.0 lt con acqua distillata e si decanta la fase organica. Si eliminano per distillazione le tracce di cloruro di metilene e la soluzione acquosa si ultrafiltra su membrana di polisulfone (cut-off 10.000

daltons, superficie 0.5 m^2). Si concentra quindi a 2.0 lt e si liofilizza: vengono ottenuti gr. 121.7 di prodotto solubile in acqua che all'analisi elementare dette i seguenti risultati:

C = 46.22 % H = 7.08 % N = 8.53 % Cl = 6.85 %

La struttura del composto ottenuto, determinata mediante ^{13}C -NMR

risultò essere la seguente:



100.0 g di fecola di mais (0.62 moli) sono sospesi in 1.0 l di metanolo contenenti ml 10 di HCl concentrato (36% v/v). Si scalda a riflusso del metanolo per 3 h. Si filtra il solido che poi si lava con metanolo fino ad eliminazione dell'acido residuo.

L'amido idrolizzato così ottenuto (g 90.0, 0.55 moli) è addizionato poco a poco a 1.57 l di una soluzione 3.5 M di KOH (5.5 moli di KOH) sotto agitazione e con flusso di N_2 . Si lascia agitare a temperatura ambiente sino a dissoluzione dell'amido.

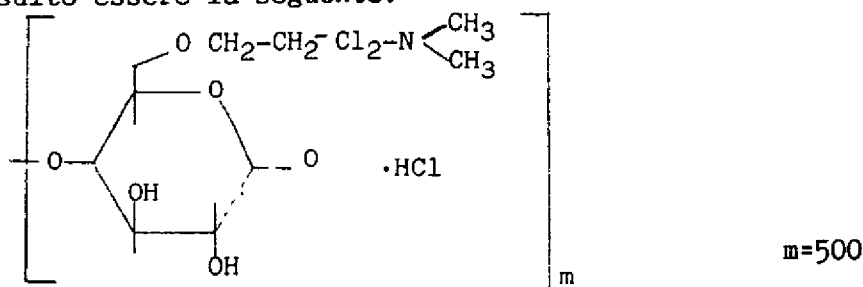
A questa soluzione si addiziona poco a poco DMPC (3-cloro propil dimetil amino-cloridrato) base (5.5 moli di DMPC base) ottenuta disciogliendo g 870 di DMPC cloridrato in 1.5 l di acqua e neutralizzando tale soluzione con g 308 di KOH in perle.

Terminata l'addizione si lascia reagire a temperatura ambiente per 16 h sotto flusso di N_2 .

Si acidifica la soluzione a pH = 3.0 con HCl conc. (36% v/v). La miscela così ottenuta è diluita 3 volte in volume, filtrata ed ultrafiltrata come visto nell'esempio 3. Si concentra a 3.0 l e si liofilizza.

Vengono ottenuti g 109.1 (80% di rendimento) di un prodotto solubile in acqua con un contenuto in azoto del 4.4%.

La struttura del composto ottenuto, determinata mediante ^{13}C -NMR, risultò essere la seguente:



ESEMPIO 5

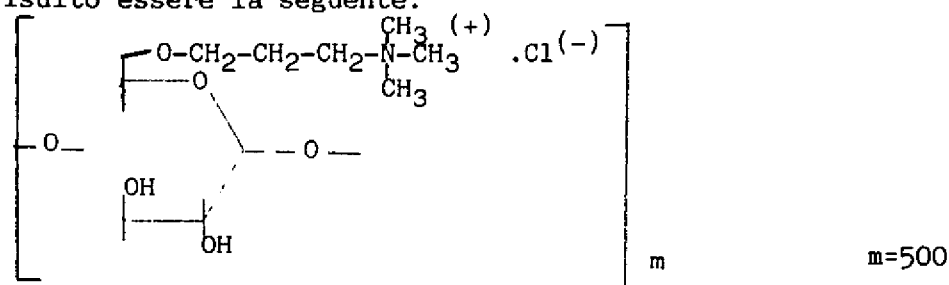
g 100.0 di prodotto descritto nell'esempio 4, pari a 0.31 moli di gruppi aminici terziari, sono disciolti in 1,0 l di acqua deionizzata. A tale soluzione vengono addizionati g 84.0 di sodio bicarbonato (1.0 moli) solido. Si lascia agitare per 2 h a temperatura ambiente e quindi si aggiungono poco a poco 0.75 moli di dimetilsulfato (95.0 g, 72.0 ml) mantenendo la temperatura poi inferiore a 30°C per successive 16 h.

Si diluisce 3 volte con acqua il volume della miscela di reazione, si filtra, e si ultrafiltra come nello esempio 3.

Alla soluzione così ottenuta si addizionano g 438.7 di cloruro sodico solido (7.5 moli) lasciando agitare per 2 h a temperatura ambiente. Si ultrafiltra di nuovo, si concentra a 1.5 l e si

liofilizza. Vengono ottenuti g 105 di prodotto con un contenuto in cloro del 5.31%.

La struttura del composto ottenuto, determinata mediante ^{13}C -NMR risultò essere la seguente:



ESEMPIO 6

100.0 g di chitosano (0.59 moli), pretrattati come descritto nell'esempio 1 fino a neutralizzazione con sodio bicarbonato, vengono sospesi in 1.0 l di acqua distillata ed agitati fino a perfetta omogeneizzazione della miscela.

Vengono poi addizionati g 168.1 di N-metil-aziridina (2.95 moli) disciolti in 150 ml di alcool etilico. Terminata l'addizione si lascia reagire per 16 h a temperatura ambiente.

Si acidifica quindi la miscela di reazione con acido cloridrico concentrato fino a pH 3.0.

Si diluisce 3 volte la soluzione che viene poi filtrata su celite.

Il filtrato si ultrafiltra poi su di una membrana con cut-off di 10.000 e superficie di 0.1 m^2 .

Si concentra ad 1.0 l la soluzione che viene poi trasferita in un pallone da 2.0 l.

Si aggiungono g 148.7 (1.77 moli) di sodio bicarbonato solido,

agitando sino a dissoluzione e quindi g 421.3 (1.77 moli) di 2-bromo etil trimetil ammonio bromuro disciolti nel minimo di acqua.

Si scalda a 80°C per 16 h, quindi si raffredda, si diluisce 3 volte e si filtra su celite.

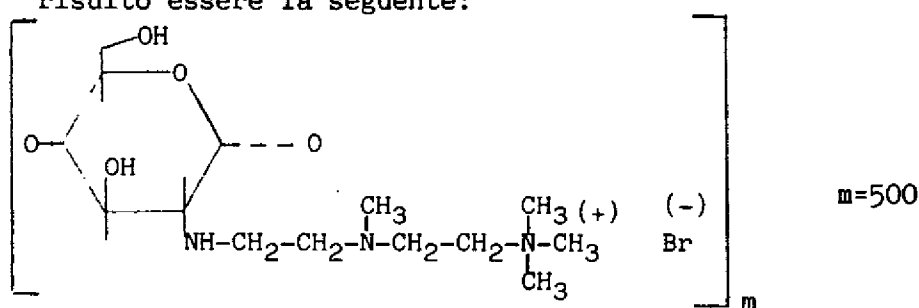
Si ultrafiltra la soluzione così ottenuta su di una membrana di polisulfone con un cut-off di 100.000 ed un'area di 0.1 m².

La soluzione purificata è concentrata di nuovo ad 1.0 l e liofilizzata.

Vengono ottenuti g 107.3 di prodotto secco, la cui analisi elementare dette i seguenti risultati:.

C% = 44.64 H% = 7.32 N% = 9.68 Br% = 12.5.

La struttura del composto ottenuto, determinata mediante ¹³C-NMR risultò essere la seguente:



100 g di amido idrolizzato (0.62 moli), ottenuti come riportato nell'esempio 4, sono sospesi in 1.0 l di acqua deionizzata contenente g 155.5 (1.85 moli) di sodio bicarbonato. Si lascia agitare la sospensione a temperatura ambiente per 30' circa.

Si aggiungono poi, a piccole porzioni, g 344.1 (1.85 moli) di cloruro di betaina (cloruro dell'acido) solido esente da tracce di cloruro di tionile. Si addiziona a spatole il cloruro di acido

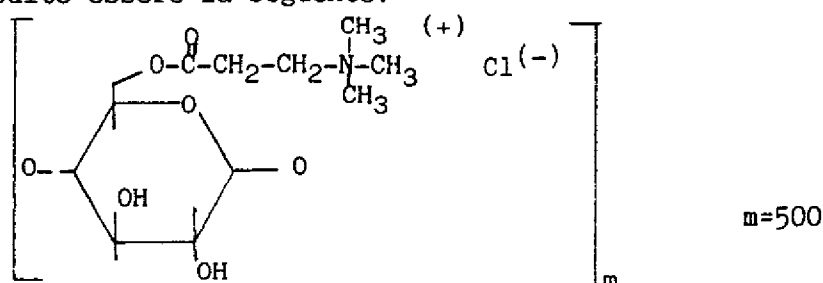
per un tempo di circa 8 h a temperatura ambiente mantenendosi il pH ad un valore non inferiore ad 8.0.

Si lavora e si purifica come nell'esempio 3 liofilizzando la soluzione finale purificata.

Vengono ottenuti g 150.5 di prodotto solido (teorico g 193.1 per un grado di sostituzione = 1.0) la cui analisi elementare dette i seguenti risultati:

C% = 45.83 H% = 6.85 N% = 3.49 Cl% = 8.86

La struttura del composto ottenuto, determinata mediante ^{13}C -NMR risultò essere la seguente:



ESEMPIO 8

90.0 g di amido idrolizzato (0.55 moli), preparato come descritto nell'esempio 4, sono addizionati poco a poco a 1.57 l di una soluzione 3.5 M di KOH (5.5 moli KOH) mantenuta sotto agitazione e con corrente di azoto. Dopo totale dissoluzione dell'amido vengono aggiunti, poco a poco, g 681.4 di 2-bromoetilamina (5.5 moli). Si lascia reagire a 40°C per 16 h mantenendo il sistema sotto agitazione e con un flusso di azoto. La miscela di reazione è quindi acidificata con HCl concentrato fino ad un pH di 3.0, diluita 3 volte con acqua, filtrata su celite ed ultrafiltrata su di una membrana con cut-off di 10.000

Daltons.

Terminata la ultrafiltrazione si concentra ad 1.0 l travasando poi tale soluzione ad un reattore di 2.0 l.

Si aggiungono g 138.6 (1.65 moli) di sodio bicarbonato, agitando sino a dissoluzione, e quindi tutti in un volta g 392.8 di 2-bromo etil trimetil anonio bromuro (1.65 moli) disciolti nel minimo di acqua distillata, si scalda successivamente la miscela di reazione per 6 h a 90°C.

Si raffredda, si diluisce 3 volte la soluzione e si filtra su celite.

Il filtrato si ultrafiltra come nell'esempio 3.

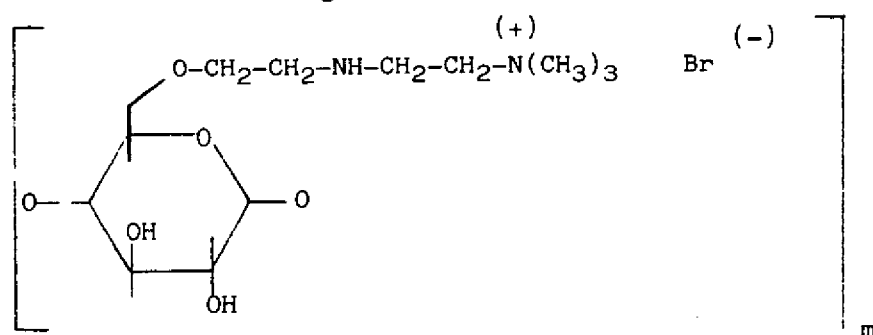
La soluzione ultrafiltrata è quindi concentrata a 0.5 l e liofilizzata.

Vengono ottenuti g 143.0 di prodotto solido perfettamente idrosolubile.

Analisi elementare:

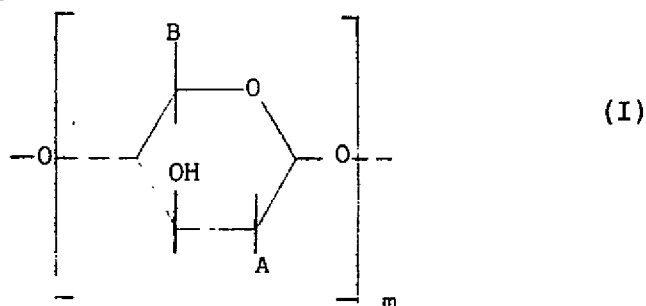
C% = 42.76 H% = 6.94 N% = 5.28 Br % = 15.09

La struttura del composto ottenuto, determinata mediante ^{13}C -NMR risultò essere la seguente:



RIVENDICAZIONI

1. Derivati del chitosano aventi una catena laterale legata all'atomo di azoto del chitosano, detta catena essendo priva di gruppi ossidrilici e cationizzata, rappresentati dalla seguente formula generale



in cui:

- m è un numero intero compreso tra 50 e 5000

- A significa:

- $\text{NH-CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^{(+)2}\text{R}^{(+)3}\text{X}^{(-)}$;
- $\text{NH-CHR}-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^{(+)2}\text{R}^{(+)3}\text{X}^{(-)}$;
- $\text{NH}-(\text{CH}_2)_a-\text{CHR}-(\text{CH}_2)_b-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^{(+)2}\text{R}^{(+)3}\text{X}^{(-)}$;
- $\text{NH-CH}_2-(\text{CH}_2)_b-\text{NR}-(\text{CH}_2)_a-\text{CH}_2-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^{(+)2}\text{R}^{(+)3}\text{X}^{(-)}$;
- $[\text{NR}^{(+)}_4\text{R}^{(+)}_5-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^{(+)2}\text{R}^{(+)3}]_2 \text{X}^{(-)}$;
- $[-\text{NH-CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}_4\text{R}^{(+)}_5-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_b-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^{(+)2}\text{R}^{(+)3}]_2 \text{X}^{(-)}$;
- $\text{NHCOCH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^{(+)2}\text{R}^{(+)3} \text{X}^{(-)}$;
- $\text{NH-CH}_2-(\text{CH}_2)_b-\text{NHCOCH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^{(+)2}\text{R}^{(+)3} \text{X}^{(-)}$;
- $[\text{NR}^{(+)}_4\text{R}^{(+)}_5-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NHCO-CH}_2(\text{CH}_2)_b-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^{(+)2}\text{R}^{(+)3}]_2 \text{X}^{(-)}$;

- B significa:

- CH_2OH , $-\text{CH}_2\text{OR}$, $-\text{COOR}$, $-\text{COOH}$,

- $\text{CO-NR}-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{CH}_2-\text{NR}^{(+)}\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CHR}-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{CHR}-(\text{CH}_2)_b-\text{NR}^{(+)}\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}-(\text{CH}_2)_b-\text{CH}_2-\text{NR}^{(+)}\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}\text{R}^4\text{R}^5-(\text{CH}_2)_b-\text{CH}_2-\text{NR}^{(+)}\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

dove a e b possono essere uguali o diversi fra loro e sono numeri interi compresi fra 1 e 20;

R , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 possono essere uguali o diversi fra loro e significano idrogeno, alchile lineare o ramificato avente da 1 a 30 atomi di carbonio, arile o alchilarile;

$\text{X}^{(-)}$ è un anione scelto nel gruppo costituito da Cl^- , Br^- , I^- , HSO_4^- , $\text{CH}_3\text{OSO}_3^-$, NO_3^- , $\text{C}_2\text{H}_5-\text{O}-\text{SO}_3^-$, HCO_3^- .

2. Derivati del chitosano come rivendicato in 1. in

cui A è $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$, $a=1$, ed $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{CH}_3$.

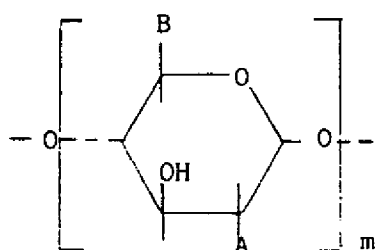
3. Derivati del chitosano come rivendicato in 1. in

cui A è $-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$, $a=2$, ed $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{CH}_3$ e R^3 è idrogeno.

4. Derivati del chitosano come rivendicato in 1. in

cui A è $-\text{NHCOCH}_2-(\text{CH}_2)_a^{(+)}\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$; $a=1$, ed $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{R}^3=\text{CH}_3$.

5. Procedimento di preparazione di derivati di polisaccaridi aventi la seguente formula generale



(I)

in cui:

- m è un numero intero compreso tra 50 e 5000

- A significa:

- OH , NH_2 , NHCOR ;

- $\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a^{(+)}\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{NH}-\text{CHR}-(\text{CH}_2)_a^{(+)}\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{NH}-(\text{CH}_2)_a-\text{CHR}-(\text{CH}_2)_b^{(+)}\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_b-\text{NR}-(\text{CH}_2)_a-\text{CH}_2-\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $[\text{NR}^4\text{R}^5-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a^{(+)}\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3]_2\text{X}^{(-)}$;

- $[-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a^{(+)}\text{NR}^4\text{R}^5-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_b^{(+)}\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3]_2\text{X}^{(-)}$;

- $\text{NHCOCH}_2-(\text{CH}_2)_a^{(+)}\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_b-\text{NHCOCH}_2-(\text{CH}_2)_a^{(+)}\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $[\text{NR}^4\text{R}^5-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NHCO}-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_b\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3]_2\text{X}^{(-)}$;

- B significa:

- CH_2OH , $-\text{CH}_2\text{OR}$, $-\text{COOR}$, $-\text{COOH}$,

- $\text{CO-NR}-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{CH}_2-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CHR}-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{CHR}-(\text{CH}_2)_b-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}-(\text{CH}_2)_b-\text{CH}_2-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

- $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_a-\text{NR}^{(+)}_4\text{R}^5-(\text{CH}_2)_b-\text{CH}_2-\text{NR}^{(+)}_1\text{R}^2\text{R}^3\text{X}^{(-)}$;

dove a e b possono essere uguali o diversi fra loro e sono numeri interi compresi fra 1 e 20;

R , R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 possono essere uguali o diversi fra loro e significano idrogeno, alchile lineare o ramificato avente da 1 a 30 atomi di carbonio, arile o alchilarile;

$\text{X}^{(-)}$ è un anione scelto nel gruppo costituito da Cl^- , Br^- , I^- , HSO_4^- ,

$\text{CH}_3\text{OSO}_3^-$, NO_3^- , $\text{C}_2\text{H}_5-\text{O}-\text{SO}_3^-$, HCO_3^- ,

comprendente i seguenti stadi:

- a) pretrattamento del polisaccaride in un mezzo acidificato con un acido scelto nel gruppo costituito da acido cloridrico, acido solforico, acido formico, acido acetico, eventualmente comprendente una fase di purificazione per ultrafiltrazione;
- b) introduzione nella molecola del polisaccaride pretrattato di almeno una catena alchilica o acilica in cui è già presente un

atomo di azoto quaternario o comunque un gruppo amminico che può essere successivamente trasformato nel gruppo ammonico quaternario, mediante reazione con il relativo alogenuro in ambiente acquoso, ad una temperatura compresa fra 20°C e 150°C, per un tempo compreso fra 2 ore e 24 ore.

c) purificazione del prodotto ottenuto mediante ultrafiltrazione su membrane con taglio dei pesi molecolari (cut-off) superiori a 10.000 e liofilizzazione dell'ultrafiltrato con ottenimento del prodotto finale in polvere.

6. Procedimento come rivendicato in 5, in cui il rapporto molare fra il polisaccaride trattato e l'alogenuro varia fra 1:1 e 1:20.

7. Procedimento come rivendicato in 5, in cui detto polisaccaride è il chitosano e detto pretrattamento è effettuato trattando una sospensione acquosa di chitosano, contenente da 30 a 90 g di chitosano per litro di acqua, ad una temperatura compresa fra 5°C e 40°C e per un tempo compreso fra 1 ora e 20 ore, con una soluzione acquosa di un acido scelto nel gruppo costituito da acido cloridrico, acido solforico, acido formico, acido acetico, la quantità di detto acido essendo compresa fra 1 e 3 moli di acido per mole di chitosano, in presenza di un nitrito alcalino, in quantità compresa fra l'1 e il 3% molare rispetto al chitosano, fino a completa solubilizzazione del chitosano di partenza; ultrafiltrando la soluzione così ottenuta mediante membrane con taglio dei pesi molecolari (cutoff) superiori a 10.000 ad una temperatura compresa fra 20 e 40°C ed una pressione

compresa fra 4 e 8 bar; portando la concentrazione dell'ultrafiltrato fino ad un contenuto di chitosano compreso fra 5 e 15 grammi % di soluzione e neutralizzando la soluzione concentrata con sodio bicarbonato solido con formazione di una sospensione acquosa.

8. Procedimento come rivendicato in 5, in cui detto polisaccaride é la cellulosa.

9. Procedimento come rivendicato in 5, in cui detto polisaccaride é l'amido.

10. Procedimento come rivendicato in 5, in cui detto polisaccaride é il tragacanto.

11. Procedimento come rivendicato in 5, in cui detto polisaccaride é la farina di carrube.

12. Procedimento come rivendicato in 5, in cui detto polisaccaride é il guar.

13. Procedimento come rivendicato in 5, in cui detto polisaccaride é il tamarindo.

Milano li

5 OTT. 1990

p. FARMHISPANIA S.A.

Il Mandatario


DR. GEMMA GERVASI della

NOTARBARTOLO & GERVASI S.r.l.

