



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) PI 1013656-8 B1**



**(22) Data do Depósito: 31/03/2010**

**(45) Data de Concessão: 30/04/2019**

**(54) Título:** PRODUTO DE LIGAÇÃO E SEU USO, FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA E PROCESSO PARA PREPARAR UM PRODUTO DE LIGAÇÃO

**(51) Int.Cl.:** A61K 47/61; A61K 49/00; A61P 17/00.

**(52) CPC:** A61K 47/61; A61K 49/0017.

**(30) Prioridade Unionista:** 07/12/2009 EP PCTEP2009008718; 31/03/2009 DE 1020090150854.

**(73) Titular(es):** B. BRAUN MELSUNGEN AG.

**(72) Inventor(es):** BERND HORST MEIER; CLARA MEIER; NELE MEIER; IRIS JANKOWAK-MEIER.

**(86) Pedido PCT:** PCT EP2010054295 de 31/03/2010

**(87) Publicação PCT:** WO 2010/136242 de 02/12/2010

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 30/09/2011

**(57) Resumo:** PRODUTO DE LIGAÇÃO E SEU USO, FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA E PROCESSO PARA PREPARAR UM PRODUTO DE LIGAÇÃO A invenção se refere a um produto de ligação compreendendo pelo menos os polissacarídeos T1 e T2, caracterizado pelo fato que a) os monossacarídeos a partir dos quais os polissacarídeos T1 e T2 são construídos e são parcial ou totalmente ligados um ao outro alfa-1,4-glicosidicamente e b) pelo menos um dos polissacarídeos T1 e / ou T2 é composto por pelo menos um grupo amino e c) T1 e T2 são quimicamente ligados entre si covalentemente por pelo menos um ligante Z e d) T1 e / ou T2 carrega grupos m - (L - A), onde A é um ingrediente farmacêutico ativo e / ou um marcador de fluorescência, L é um segundo ligante, pelo qual T1 e / ou T2 é covalentemente ligado a A, e m é um inteiro, que é 0 ou pelo menos 1.

**PRODUTO DE LIGAÇÃO E SEU USO, FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA E PROCESSO PARA PREPARAR UM PRODUTO DE LIGAÇÃO**

[0001] A invenção se refere a um produto de ligação compreendendo pelo menos os polissacarídeos T1 e T2, onde os monossacarídeos a partir dos quais os polissacarídeos T1 e T2 são constituídos são parcial ou totalmente ligados através de ligações alfa-1,4-glicosídicas, e pelo menos um dos polissacarídeos T1 e / ou T2 tem um grupo amino, e T1 e T2 são unidos quimicamente por ligações covalentes por meio de pelo menos um ligante Z.

[0002] Além disso, a invenção se refere a formulações farmacêuticas compreendendo tal produto de ligação, em que a dita formulação farmacêutica pode ser aplicada para uso na profilaxia de adesões e cicatrizes, e para parar hemorragias, ou como um líquido sinovial. Em adição, as formulações farmacêuticas são destinadas ao uso na terapia e profilaxia de cicatrização de feridas.

[0003] Em adição, a invenção refere-se ao uso do produto de ligação como uma cobertura de feridas, implante e aditivo para gel para o cabelo, detergentes e agentes de cuidados, loção de modelagem de cabelo, agente de tingimento e agente de cuidados, material de implante, cimento ósseo, como uma matriz para epitelização e colonização por células endógenas, material de sutura, próteses vasculares, cateteres vasculares, stents e cateteres da veia central. Além disso, a invenção se refere a um processo para preparar o produto de ligação.

[0004] No campo da medicina, materiais plásticos passaram a ser usados em uma ampla variedade de aplicações. Por exemplo,

materiais plásticos são utilizados como implantes, material de sutura, próteses vasculares, cateteres vasculares, ou como um material de isolamento de condutores elétricos. Frequentemente, os materiais plásticos empregados estão em constante contato com os tecidos do corpo humano. No entanto, um complexo confronto dos sistemas corporais de defesa do portador do implante com o corpo estranho se inicia brevemente após a implantação. O confronto pode levar a uma rejeição do material estranho implantado e a reações de inflamação grave em um caso desfavorável. Adicionalmente, os implantes podem ser infectados por bactérias, que podem levar à disseminação das bactérias através do sangue até uma sepsis fatal. Devido a tais complicações, é necessário que alguns implantes sejam deixados no corpo assim que possível. Os problemas levam ao uso de materiais plásticos, que fornecem apenas pequenos alvos para o confronto imunológico. Outra dificuldade reside na ativação da coagulação do sangue por implantes tendo contato com o sangue circulante, tais como próteses vasculares, stents ou cateteres da veia central. Coágulos formados pela ativação de contato nos implantes podem obstruir cateteres e stents e, assim, inutilizá-los. Além disso, coágulos sanguíneos são muitas vezes os pontos de partida de mais uma colonização bacteriana. Tentativas para superar essas complicações incluem o revestimento da superfície em contato com o sangue dos implantes com substâncias anticoagulantes, como a heparina. Alguns implantes, como stents, tornam isto necessário para evitar esta formação de coágulos sanguíneos, impedindo a coagulação do sangue pela ingestão adicional de medicamentos anticoagulantes, como fenprocoumon, clopidogrel, ácido também

está associada com um risco substancial de hemorragia. Em um grande número de cateteres de artéria central e veia central, compostos de plástico moldável, como o cloreto de polivinil ou compostos de poliuretano, são utilizados. Nestes cateteres tendo contato permanente com o sangue circulante, a adesão dos órgãos coagulados é contrabalançada pelo revestimento com substâncias anticoagulantes e / ou por uma suavização da superfície correspondente. No revestimento destes materiais plásticos com heparinas, várias técnicas a partir da deposição dependente de carga das moléculas de heparina fortemente carregadas negativamente para a ligação quimicamente covalente com a formação de ligadores podem ser usadas. De todos os revestimentos com heparina, esses métodos devem ser preferíveis para manter a parte anticoagulante da molécula heparina livre. No entanto, o modo ideal de acoplamento através do grupo terminal aldeído da molécula de heparina pode ser realizado apenas com o consumo aumentado devido à ausência de grupos funcionais adequados no material do cateter. Materiais plásticos são essencialmente biologicamente inertes. Implantes feitos destes materiais plásticos são bastante reconhecidos como corpos estranhos e rejeitados do que epitelizados pelo corpo e convertidos em uma forma adequada para o corpo, como com os implantes de origem biológica.

[0005] O documento US 2005/828800 descreve a aminação redutiva de compostos hidroxialquilcelulose. Os compostos aqui descritos são sólidos constituídos de metades de anidroglicose ligadas através de ligações beta-glicosídicas. Devido às suas propriedades físico-químicas, esses compostos são completamente inadequados para os fins da invenção. A

incorporação específica de substituintes adicionais através dos grupos amino introduzidos não é descrita. Pelo contrário, as hidroxialquilceluloses redutivamente aminadas ligadas via ligações beta-glicosídicas têm uma grande similaridade com as quitosanas. Em comparação com a quitosana, celuloses aminadas são ramificadas, e seus monômeros de glucosamina não são acetilados para os grupos amino, como é o caso com a quitosana em até 40%, por exemplo. No entanto, ambos os compostos são poli-beta-1,4-glucosaminas insolúveis em água. Mamíferos superiores não podem degradar nem quitosanas beta-glicosidicamente ligadas nem hidroxialquilceluloses aminadas por enzimas endógenas. É de se considerar que as hidroxialquilceluloses aminadas têm um potencial alérgico claramente superior, em comparação com os compostos de quitosana. Outros polímeros moldáveis elasticamente são empregados em cirurgias como poli(metacrilatos de metila), por exemplo, como cimento ósseo, com os riscos descritos acima de reação alérgica até um choque alérgico.

[0006] Portanto, houve uma necessidade de fornecer compostos adequados que resolvam os problemas mencionados no estado da técnica. Em particular, tem sido o objeto da presente invenção fornecer compostos biologicamente degradáveis que possam ser empregados como materiais de base polimérica ou aditivos, de preferência em artigos medicinais, e que possam adicionalmente ser simplesmente ligados com substâncias medicinais ativas e / ou marcadores fluorescentes.

[0007] Surpreendentemente, tem sido descoberto que os problemas do estado da técnica podem ser resolvidos por um produto de ligação que compreende pelo menos dois

polissacarídeos nos quais as metades monossacarídicas estejam ligadas entre si através de ligações alfa-1,4-glicosídicas e que tenham pelo menos um grupo amino.

[0008] Portanto, a presente invenção se refere a um produto de ligação compreendendo pelo menos os polissacarídeos T1 e T2, onde

a) os monossacarídeos a partir dos quais os polissacarídeos T1 e T2 são constituídos e são parcial ou totalmente ligados através de ligações alfa-1,4-glicosídicas, e

b) pelo menos um dos polissacarídeos T1 e / ou T2 tem pelo menos um grupo amino, e

c) T1 e T2 são ligados quimicamente por ligações covalentes por meio de pelo menos um ligador Z; e

d) T1 e / ou T2 carregam grupos  $m - (L - A)$ , onde

- A é uma substância medicinalmente ativa e / ou um marcador de fluorescência;

- L é um segundo ligante através do qual T1 e / ou T2 é covalentemente ligado com A, e

- m é um inteiro de 0 ou, pelo menos, 1.

[0009] O produto de ligação de acordo com a invenção compreende pelo menos dois polissacarídeos T1 e T2 constituídos a partir de monossacarídeos parcial ou totalmente ligados através de ligações alfa-1,4-glicosídicas. Em adição, pelo menos um dos polissacarídeos presentes no produto de ligação carrega pelo menos um grupo amino.

[0010] Os polissacarídeos aminados representam, por exemplo, compostos de partida ideais para as reações de ligação adicionais com substâncias medicinalmente ativas ou para ligação entre os polissacarídeos T1 e T2.

[0011] Preferencialmente, os polissacarídeos T1 e / ou T2 são constituídos a partir de hexoses, especialmente aldohexoses, o que podem, opcionalmente, ser substituídos. Assim, as metades de monossacarídeo a partir das quais T1 e T2 são constituídos podem ser parcial ou totalmente substituídas e terem um ou mais radicais, de preferência selecionados do grupo composto de ácido carboxílico, éster de ácido carboxílico, radicais alquila substituídos ou não substituídos com 1 a 4 átomos de carbono, amida de ácido carboxílico, ácido sulfônico, amida de ácido sulfônico e hidrogenosulfato, e suas misturas. Mais preferencialmente, as metades monossacarídicas pelo menos em parte têm radicais selecionados a partir do grupo consistindo em carboximetil, carboxietil, hidroxietil, hidroximetil, ácido carboxílico, amida, sulfonamida, sal de ácido carboxílico, sal de ácido sulfônico, ácido sulfúrico, sulfato, hidrogenosulfato e amida de ácido sulfúrico, e suas misturas.

[0012] Preferencialmente, polissacarídeos adequados T1 e T2 que podem ser empregados para a construção do produto de ligação de acordo com a invenção são independentemente selecionados do grupo de polissacarídeos opcionalmente aminados consistindo de amiloses, amilopectina, acemannan, arabinogalactanos, galactomananas, ácido algínico, derivados do ácido algínico, sais de ácido algínico, galactoglucomanas, xantanas, carragena, goma guar, goma arábica,

arabinogalactanos, amido e amido modificado. Sob os aspectos de custo, mas também por razões biológicas de tolerabilidade, os polissacarídeos T1 e T2 são independentemente selecionados, em particular, a partir de polissacarídeos opcionalmente aminados do grupo consistindo de amidos de hidroxialquila, amidos esterificados, amidos carboxialquilados, hidroxialquila-carboxialquilamido, hidroxietilamido, carboximetilamido e hidroxietil-carboximetilamido.

[0013] Em uma modalidade preferida da presente invenção, o produto de ligação de acordo com a invenção tem os polissacarídeos T1 e T2 que são independentemente selecionados do grupo consistindo de hidroxietilamidos aminados, carboximetilamidos aminados, amido carboxietilamidos aminados, hidroxietil-carboximetilamidos aminados, e hidroxialquilamidos aminados.

[0014] Em outra modalidade preferida, os polissacarídeos T1 e T2 do produto de ligação de acordo com a invenção são diferentes.

[0015] Em outra modalidade preferida, os polissacarídeos opcionalmente aminados T1 e / ou T2 são solúveis em água a 20 °C, e de preferência T1 e / ou T2 têm uma solubilidade em água a 20 °C de pelo menos 1 g/l, de preferência 10 g/l, especialmente 50 g/l.

[0016] Os polissacarídeos T1 e / ou T2 têm pelo menos um grupo amino. Em uma modalidade preferida, tanto o polissacarídeo T1 como o polissacarídeo T2 tem pelo menos um grupo amino.

[0017] Como grupos amino, os polissacarídeos T1 e/ou T2 podem ter grupos amino primários, secundários, assim como terciários. Preferencialmente, no entanto, os polissacarídeos T1 e / ou T2 têm pelo menos um grupo  $\text{-NH}_2$ .

[0018] A introdução de grupos amino nos polissacarídeos é familiar ao técnico na arte. Em uma modalidade preferida, os grupos amino são introduzidos por aminação redutiva dos polissacarídeos T1 e / ou T2. Assim, em uma modalidade preferida, os polissacarídeos T1 e / ou T2 têm grupos amino que foram introduzidos nos polissacarídeos T1 e / ou T2 por aminação redutiva. Tais polissacarídeos T1 e / ou T2 podem ser reconhecidos pelo fato de que os grupos aldeído dos polissacarídeos T1 ou T2 foram convertidos para grupos amino, de preferência grupos  $\text{-NH}_2$ .

[0019] Os polissacarídeos T1 e T2, a partir dos quais o produto de ligação é constituído, têm monossacarídeos que são parcial ou totalmente ligados através de ligações alfa-1,4-glicosídicas. A ligação alfa-1,4-glicosídica dos monossacarídeos contribui significativamente para uma maior degradação biológica dos polissacarídeos. Em uma modalidade preferida, os monossacarídeos a partir dos quais os polissacarídeos T1 e T2 são constituídos são independentemente ligados através de ligações alfa-1,4-glicosídicas em pelo menos 20%, de preferência pelo menos 50%, mais preferivelmente pelo menos 90%, respectivamente, com base sobre o número total de monossacarídeos.

[0020] O peso molecular dos polissacarídeos T1 e T2 pode variar dependendo da aplicação. Preferencialmente, o peso molecular médio dos polissacarídeos T1 e / ou T2 está dentro

de uma faixa de 20.000 a 800.000 dalton, preferencialmente de 25.000 a 500.000 dalton, especialmente de 30.000 a 200.000 dalton.

[0021] Amido modificado, especialmente hidroxietilamido, com um grau de substituição, DS, de 0,2 a 0,8, preferencialmente de 0,3 a 0,8, foi descoberto para ser particularmente preferido os polissacarídeos T1 e / ou T2, onde o amido modificado ou o hidroxietilamido está opcionalmente em uma forma aminada.

[0022] O grau de substituição, DS, é definido como a razão entre o número total de unidades de monômero substituído com o número total de unidades monoméricas.

[0023] Como medicamentos A, todas as substâncias podem ser utilizadas que podem ser incorporadas nos polissacarídeos T1 e / ou T2 acima mencionados através de um ligante L.

[0024] Os produtos de ligação de acordo com a invenção podem ser opcionalmente ligados a substâncias medicinalmente ativas ou marcadores de fluorescência. Preferencialmente, a substância medicinalmente ativa é selecionada do grupo que consiste em antibióticos, agentes antimicrobialmente ativos, agentes citostáticos, quimioterápicos, antígenos, oligonucleotídeos, mediadores, substratos metabólicos falsos, e substâncias citotóxicas.

[0025] Em uma modalidade particularmente preferida, a substância medicinalmente ativa A é selecionada do grupo de glucosaminoglicanas ou derivados de glucosaminoglicanas.

[0026] Especialmente para os produtos medicinais, o uso de substâncias medicinalmente ativas A tem provado ser uma característica vantajosa dos produtos de ligação.

[0027] Em uma modalidade particularmente preferida, a substância medicinalmente ativa A é selecionada do grupo consistindo de heparina e sulfato de heparina, assim como o ácido hialurônico, especialmente heparina ou sulfato de heparina com menos de 6 metades de sacarídeos.

[0028] Mais preferivelmente, o medicamento A, especialmente heparina ou derivados de heparina, é ligado por aaminação redutiva com os polissacarídeos T1 e / ou T2, que já podem estar ligados entre si através de Z.

[0029] Os polissacarídeos T1 e / ou T2 de preferência têm grupos  $m - (L - A)$ , onde m é um inteiro de pelo menos 1, de preferência de 1 a 1000, especialmente de 1 a 100, mais preferivelmente de 2 a 100, e especialmente de 3 a 20.

[0030] Os marcadores de fluorescência são de preferência selecionados do grupo consistindo de isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina, rodâmina e 2-aminopiridina.

[0031] Além das substâncias puramente medicinalmente ativas, marcadores de fluorescência, por exemplo, isotiocianato de fluoresceína, também podem ser empregados terapêuticamente na conexão com os polissacarídeos T1 e / ou T2. No campo da medicina, a marcação com marcadores de fluorescência pode servir para fazer especificamente esses produtos de ligação visíveis no corpo. O uso dos produtos de ligação de acordo com a invenção no campo cosmético pode levar a, por exemplo, géis de cabelo, agentes de fixação de cabelo ou agentes de

tingimento que brilham sob luz UV. Os polissacarídeos T1 e T2 são ligados quimicamente por ligações covalentes através de pelo menos um ligante Z. Em uma modalidade preferida da presente invenção, o ligante Z é um grupo funcional selecionado de éster de ácido carboxílico, amidas de ácido carboxílico, uretano, éter e amina, ou inclui pelo menos um desses grupos funcionais. Mais preferencialmente, a ligação química covalente entre T1 e T2 através do ligante Z é reversível, ou seja, pode ser clivada novamente sem dificuldade, por exemplo, enzimaticamente.

[0032] O segundo ligante L, através do qual T1 e / ou T2 é covalentemente ligado com A corresponde também ao primeiro ligante Z em sua função e desenho. Para o ligante L, é particularmente vantajoso se ele pode ser clivado de novo sem dificuldade, por exemplo, enzimaticamente, o que faz com que a substância medicinalmente ativa e / ou o marcador de fluorescência sejam liberados. A formação do ligante Z ou L pode ser feita por meio de métodos descritos no estado da arte para a formação de ésteres de ácido carboxílico, amidas de ácido carboxílico, uretanos, éteres e aminas.

[0033] Se ambos T1 e T2 têm grupos amino, a ligação é efetuada preferencialmente através de dialdeídos alifáticos, por exemplo, glutaraldeído.

[0034] Em uma modalidade adicional da presente invenção, o composto de acordo com a invenção é obtido por uma reação de pelo menos um grupo livre

. do grupo hidroxil (- OH);

do polissacarídeo T1 básico, livre do

- grupo isocianato (- NCO);
- grupo carboxi (- COOH);
- grupo de haleto de ácido carboxílico (- CO-A, com A = Cl, Br ou I);
- grupo de alquilenocarboxi (- (CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub> - COOH, com q = 1-10);
- grupo éster (- COOR com R = radical orgânico);
- grupo epoxi;
- ou grupo nucleofílico de partida;

do polissacarídeo subjacente T2 para formar o ligante Z, onde o dito polissacarídeo T1 e / ou o dito polissacarídeo T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0035] Em uma outra modalidade da presente invenção, o composto de acordo com a invenção é obtido por uma reação de pelo menos um grupo livre

- do grupo amino (- NH<sub>2</sub>);

do polissacarídeo T1 básico, livre de

- grupo isocianato (- NCO);
- grupo carboxi (- COOH);
- grupo de haleto de ácido carboxílico (- CO-A, com A = Cl, Br ou I);
- grupo alquilenocarboxi (- (CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub> - COOH, com q = 1-10);
- grupo éster (- COOR com R = radical orgânico);
- grupo epoxi;

- ou grupo de partida nucleofílico;

do polissacarídeo subjacente T2 para formar o ligante Z, em que o dito polissacarídeo T1 e / ou o dito polissacarídeo T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0036] Além disso, em uma modalidade preferida, o composto de acordo com a invenção é obtido por uma reação de pelo menos um grupo livre

- do grupo isocianato (- NCO);
- do grupo carboxi (- COOH);
- do grupo de haleto de ácido carboxílico (- CO-A, com A = Cl, Br ou I);
- do grupo alquilenocarboxi (- (CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub> - COOH, com q = 1-10);
- do grupo éster (- COOR com R = radical orgânico);
- do grupo epoxi;
- ou do grupo de partida nucleofílico;

do polissacarídeo básico T1, com um livre

do grupo amino (- NH<sub>2</sub>)

do polissacarídeo subjacente T2 para formar o ligante Z, em que o dito polissacarídeo T1 e / ou o dito polissacarídeo T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0037] Mais preferencialmente, o composto de acordo com a invenção é obtido por uma reação de pelo menos um grupo livre

- do grupo hidroxí (- OH), ou
- do grupo amino (- NH<sub>2</sub>);

do polissacarídeo básico T1, com um livre

- do grupo isocianato (- NCO);
- do grupo carboxi (- COOH);
- do grupo de haleto de ácido carboxílico (- CO-A, com A = Cl, Br ou I);
- do grupo alquilenocarboxi (- (CH<sub>2</sub>)<sup>q</sup> - COOH, com q = 1-10);
- do grupo éster (- COOR com R = radical orgânico);
- do grupo epoxi;
- ou do grupo de partida nucleofílico;

do polissacarídeo subjacente T2 para formar o ligante Z, em que o dito polissacarídeo T1 e / ou o dito polissacarídeo T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0038] De acordo com a presente invenção, grupos de partida nucleofílicos são de preferência selecionados do grupo de halogenetos e tosilatos.

[0039] Além disso, os compostos de acordo com a invenção podem ser obtidos pela reação de uma diamina de fórmula geral I



onde R<sup>1</sup> é selecionado a partir de

uma ligação simples;

grupos lineares ou ramificados, saturados ou insaturados, alifáticos ou hidrocarbila alicíclicos com 1 a 22 átomos de carbono;

grupos arila, arila-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquil e aril-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-alquenil com 5 a 12 átomos de carbono no grupo arila, que podem ser opcionalmente substituídos com alquila C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e / ou grupos alcóxi C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, ou

heteroarila, heteroarila-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquil e grupos heteroarila-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-alquenila com 3 a 8 átomos de carbono no grupo heteroarila e um ou dois heteroátomo(s) selecionados de N, O e S, que podem ser substituídos por alquila C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e / ou grupos alcóxi C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>;

com um grupo funcional livre do polissacarídeo T1 subjacente e pelo menos um grupo funcional livre do polissacarídeo T2 subjacente, que são independentemente selecionados a partir de

grupo isocianato (- NCO);

grupo carboxi (- COOH);

grupo de haleto de ácido carboxílico (- CO-A, com A = Cl, Br ou I);

grupo alquilenocarboxi (- (CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub> - COOH, com q = 1-10);

grupo éster (- COOR com R = radical orgânico);

grupo epoxi;

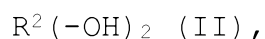
ou grupo de partida nucleofílico;

para formar o ligante Z, em que o dito polissacarídeo T1 e / ou polissacarídeo T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0040] Diaminas adequadas incluem, por exemplo, 1,2-diaminoetano, 1,2- ou 1,3-diaminopropano, 1,2-, 1,3- ou 1,4-diaminobutano, 1,5-diaminopentano, 2,2-dimetil-1,3-diaminopropano, hexametilendiamina, 1,7-diaminoheptano, 1,8-

diaminooctano, trimetil-1,6-diaminohexano, 1,9-diaminononano, 1,10-diaminodecano, 1,12-diaminododecano, 1,2-diaminociclohexano, 1,4-diaminociclohexano, 1,3-ciclohexanobis(metilamina), 1,2-fenilenodiamina, 1,3-fenilenodiamina, 1,4-fenilenodiamina, 4,4'-etilenodianilina, 4,4'-metilenodianilina, 4,4'-diaminostilbeno, 4,4'-tiodianilina, 4-aminofenildisulfito, 2,6-diaminopiridina, 2,3-diaminopiridina, 3,4-diaminopiridina, 2,4-diaminopirimidina, 4,5-diaminopirimidina, 4,6-diaminopirimidina.

[0041] Em adição, em uma modalidade adicional da presente invenção, os compostos de acordo com a invenção podem ser obtidos por uma reação de um diol de fórmula geral II



onde  $R^2$  é selecionado de

grupos lineares ou ramificados, saturados ou insaturados, alifáticos ou hidrocarbíl alicíclicos de 2 a 22 átomos de carbono;

grupos arila, arila- $C_1$ - $C_4$ -alquil e arila- $C_2$ - $C_6$ -alquenil com 5 a 12 átomos de carbono no grupo arila, que podem ser opcionalmente substituídos com alquila  $C_1$ - $C_6$  e / ou grupos alcóxi  $C_2$ - $C_6$ , ou

heteroarila, heteroarila- $C_1$ - $C_4$ -alquil e grupos heteroarila- $C_2$ - $C_6$ -alquenil com 3 a 8 átomos de carbono no grupo heteroaril e um ou dois heteroátomo (s) selecionados de N, O e S, que podem ser substituídos por alquila  $C_1$ - $C_6$  e / ou grupos alcóxi  $C_2$ - $C_6$ ;

com um grupo funcional livre do polissacarídeo T1 subjacente e pelo menos um grupo funcional livre do polissacarídeo T2 subjacente, que são independentemente selecionados a partir de

grupo isocianato (- NCO);

grupo carboxi (- COOH);

grupo de haleto de ácido carboxílico (- CO-A, com A = Cl, Br ou I);

grupo alquilenocarboxi (- (CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub> - COOH, com q = 1-10);

grupo ester (- COOR com R = radical orgânico);

grupo epoxi;

ou grupo de partida nucleofílico;

para formar um ligante Z, em que o dito colóide P e / ou mediador de transporte T está ligado com grupos m - (L - A).

[0042] Dióis adequados incluem, por exemplo, etileno glicol, propileno glicol, butileno glicol, e neopentilglicol, pentanodiol-1,5, 3-metilpentanodiol-1,5, bisfenol A, 1,2- ou 1,4-ciclohexanodiol, caprolactonodiol (produto de reação de caprolactona e etileno glicol), bisfenóis hidroxialquilatados, trimetilolpropano, trimetiloletano, pentaeritritol, hexanodiol-1,6, heptanodiol-1,7, octanodiol-1,8, butanodiol-1,4, 2-metiloctanodiol-1,8, nonanodiol-1,9, decanodiol-1,10, ciclohexanodimetilol, di-, tri- e tetraetileno glicol, di-, tri- and tetrapropileno glycol, polietileno e polipropileno glicóis com um peso molecular médio de 150 a 15.000.

[0043] Em uma outra modalidade da presente invenção, os compostos de acordo com a invenção são obtidos por uma reação de um ácido dicarboxílico de fórmula geral III

$R^3(-COOH)_2$  (III)

onde  $R_3$  é selecionado a partir de

uma ligação simples;

grupos lineares ou ramificados, saturados ou insaturados, alifáticos ou hidrocarbila alicíclicos com 1 a 22 átomos de carbono;

grupos arila, arila- $C_1-C_4$ -alquil e arila- $C_2-C_6$ -alquenil com 5 a 12 átomos de carbono no grupo arila, que podem ser opcionalmente substituídos com alquila  $C_1-C_6$  e / ou grupos alcóxi  $C_2-C_6$ , ou

heteroarila, heteroarila- $C_1-C_4$ -alquil e grupos heteroarila- $C_2-C_6$ -alquenil com 3 a 8 átomos de carbono no grupo heteroaril e um ou dois heteroátomo (s) selecionados de N, O e S, que podem ser substituídos por alquila  $C_1-C_6$  e / ou grupos alcóxi  $C_2-C_6$ ;

com um grupo funcional livre do polissacarídeo T1 subjacente e pelo menos um grupo funcional livre do polissacarídeo T2 subjacente, que são independentemente selecionados a partir de

grupo amino ( $-NH_2$ ), ou

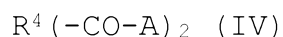
grupo hidroxil ( $-OH$ )

para formar o ligante Z, em que o dito polissacarídeo T1 e / ou polissacarídeo T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0044] Ácidos dicarboxílicos apropriados incluem, por exemplo, ácido oxálico, ácido malônico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido azelaico, ácido sebáico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido sórbico,

ácido ftálico, ácido tereftálico, ácido isoftálico, ou ácido agárico.

[0045] Em particular, os compostos de acordo com a invenção podem também ser obtidos pela reação de um haleto de ácido dicarboxílico de fórmula geral IV



onde A = Cl, Br ou I, e R<sup>4</sup> é selecionado a partir de

uma ligação simples;

grupos lineares ou ramificados, saturados ou insaturados, alifáticos ou hidrocarbila alicíclicos com 1 a 22 átomos de carbono;

grupos arila, arila-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquil e arila-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-alquenil com 5 a 12 átomos de carbono no grupo arila, que podem ser opcionalmente substituídos com alquila C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e / ou grupos alcóxi C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, ou

heteroarila, heteroarila-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquil e grupos heteroarila-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-alquenil com 3 a 8 átomos de carbono no grupo heteroaril e um ou dois heteroátomo (s) selecionados de N, O e S, que podem ser substituídos por alquila C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e / ou grupos alcóxi C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>;

com um grupo funcional livre do polissacarídeo T1 subjacente e pelo menos um grupo funcional livre do polissacarídeo T2 subjacente, que são independentemente selecionados a partir de

grupo amino (- NH<sub>2</sub>), ou

grupo hidroxil (- OH)

para formar o ligante Z, em que o dito polissacarídeo T1 e / ou polissacarídeo T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0046] Em adição, em uma modalidade preferida, os compostos de acordo com a invenção são obtidos pela reação de um diéster de fórmula geral V



onde R' é um grupo alquila C<sub>1-10</sub> e R<sup>5</sup> é selecionado a partir de uma ligação simples;

grupos lineares ou ramificados, saturados ou insaturados, alifáticos ou hidrocarbila alicíclicos com 1 a 22 átomos de carbono;

grupos arila, arila-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquil e arila-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-alquenil com 5 a 12 átomos de carbono no grupo arila, que podem ser opcionalmente substituídos com alquila C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e / ou grupos alcóxi C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, ou

heteroarila, heteroarila-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquil e grupos heteroarila-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-alquenil com 3 a 8 átomos de carbono no grupo heteroaril e um ou dois heteroátomo (s) selecionados de N, O e S, que podem ser substituídos por alquila C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e / ou grupos alcóxi C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>;

com respectivamente um grupo funcional livre do polissacarídeo T1 subjacente e pelo menos um grupo funcional livre do polissacarídeo T2 subjacente, que são independentemente selecionados a partir de

grupo amino (-NH<sub>2</sub>), ou

grupo hidroxí (-OH)

para formar o ligante Z, em que o dito polissacarídeo T1 e / ou polissacarídeo T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0047] Mais preferencialmente, os compostos de acordo com a invenção são obtidos pela reação de um diisocianato de fórmula geral VI



onde  $R^6$  é selecionado a partir de

grupos lineares ou ramificados, saturados ou insaturados, alifáticos ou hidrocarbila alicíclicos com 1 a 22 átomos de carbono;

grupos arila, arila-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquil e arila-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-alquenil com 5 a 12 átomos de carbono no grupo arila, que podem ser opcionalmente substituídos com alquila C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e / ou grupos alcóxi C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, ou

heteroarila, heteroarila-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquil e grupos heteroarila-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>-alquenil com 3 a 8 átomos de carbono no grupo heteroaril e um ou dois heteroátomo (s) selecionados de N, O e S, que podem ser substituídos por alquila C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> e / ou grupos alcóxi C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>;

com respectivamente um grupo funcional livre do polissacarídeo T1 subjacente e pelo menos um grupo funcional livre do polissacarídeo T2 subjacente, que são independentemente selecionados a partir de

grupo amino (-NH<sub>2</sub>), ou

grupo hidroxil (-OH)

para formar o ligante Z, em que o dito polissacarídeo T1 e / ou polissacarídeo T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0048] Diisocianatos apropriados incluem, por exemplo, toluileno diisocianato, bitoluileno diisocianato, dianisadina diisocianato, tetrametileno diisocianato, hexametileno diisocianato, m-fenileno diisocianato, m-xilileno diisocianato, alquilbenzeno diisocianati C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, 1-clorobenzeno 2,4-diisocianato, ciclohexilmetano diisocianato, 3,3'-dimetoxidifenilmetano 4,4'-diisocianato, 1-nitrobenzeno 2,4-diisocianato, 1-alcoxibenzeno 2,4-diisocianato, etileno diisocianato, propileno diisocianato, ciclohexileno 1,2-diisocianato, 3,3'-dicloro-4,4'-bifenileno diisocianato, difenileno diisocianato, 2-clorotrimetileno diisocianato, butileno 1,2-diisocianato, etilideno diisocianato, difenilmetano 4,4'-diisocianato, difeniletano diisocianato, 1,5-naftaleno diisocianato, ciclohexano diisocianato e isoforona diisocianato.

[0049] Particularmente de preferência, o composto de acordo com a invenção é obtido pela reação de um diepoxido com respectivamente um grupo funcional livre do polissacarídeo T1 subjacente e pelo menos um grupo funcional livre do polissacarídeo T2 subjacente, que são independentemente selecionados a partir de

grupo amino (-NH<sub>2</sub>), ou

grupo hidroxí (-OH)

para formar o ligante Z, em que o dito polissacarídeo T1 e / ou polissacarídeo T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0050] Em particular, 1,2,3,4 diepoxibutano ou 1,2,7,8-diepoxioctano tem provado ser diepoxidos adequados, de

preferência diepoxidos alifáticos com 4 a 16 átomos de carbono.

[0051] Produtos de ligação em que a ligação do T1 e T2 é efetuada por aminação redutiva têm-se revelado particularmente vantajosos. Assim, mais preferencialmente, os produtos de ligação segundo a invenção são obtidos por aminação redutiva de um polissacarídeo T1 tendo grupos amino livres ( $-NH_2$ ) com um polissacarídeo T2 tendo pelo menos um grupo aldeído ou ceto, e em que o polissacarídeo T1 e / ou T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0052] Aqui, o T1 tendo grupos amino é preferencialmente selecionado do grupo consistindo de amido aminado, amido hidroxialquila aminado, amido hidroxialquila-carboxialquil aminado, e amido carboxialquil aminado. Particularmente preferido é amido hidroxialquila aminado, que pode ser obtido, por exemplo, por aminação redutiva.

[0053] Em uma modalidade preferida, o produto de ligação de acordo com a invenção é obtido por aminação redutiva de um polissacarídeo T1 tendo grupos amino livres ( $-NH_2$ ) com um polissacarídeo T2 tendo pelo menos um grupo aldeído ou ceto, e em que o polissacarídeo T1 e / ou T2 está ligado com grupos m - (L - A).

[0054] Mais preferencialmente, o polissacarídeo T1 tendo grupos amino é selecionado do grupo consistindo de amido aminado, amido hidroxietil aminado, amido hidroxialquila aminado, amido hidroxialquila-carboxialquil aminado, e amido carboxialquil aminado. A substância medicinalmente ativa A é preferencialmente heparina ou um derivado de heparina.

[0055] Em uma modalidade particularmente preferida, o produto de ligação de acordo com a invenção é tal que a substância medicinalmente ativa é heparina,  $m$  é pelo menos 1, e o polissacarídeo T1 e / ou T2 é um hidroxietilamido, e o ligante L é um grupo - NH.

[0056] Em uma modalidade preferida, o ligante L é um grupo funcional selecionado de éster de ácido carboxílico, amida de ácido carboxílico, uretano, éter e amina ou compreende tal grupo.

[0057] Dependendo do campo de aplicação, os polissacarídeos T1 e T2 também podem ser ligados através do ligante Z para formar grupos maiores. De acordo com a invenção, a relação desta reação de ligação pode ser influenciada modificando devidamente o processo empregado. Por exemplo, isso pode ser feito mais simplesmente mudando a relação dos polissacarídeos T1 e T2 empregados, bem como a ligação dos substratos empregados, e modificando o peso molecular dos polissacarídeos T1 e T2 empregados. Além disso, condições de reação, tais como a temperatura, pressão e catalisadores também influenciam a relação entre os dois reagentes. No entanto, isto é familiar para um técnico qualificado na arte. Em uma modalidade preferida, o produto de ligação inclui ainda polissacarídeos além dos polissacarídeos T1 e T2. No entanto, em uma modalidade particularmente preferida, o produto de ligação compreende exclusivamente os polissacarídeos T1 e T2 opcionalmente ligados com grupos  $m - (L - A)$ .

[0058] O produto de ligação da presente invenção pode estar na forma de um líquido, hidrogel, filme, ou sólido. Em uma modalidade preferida, o produto de ligação está na forma de um

sólido polimérico e, de preferência tem um peso molecular médio de pelo menos 50.000 daltons, de preferência pelo menos 100.000 daltons, especialmente de 120 a 2.000.000 daltons.

[0059] O produto de ligação da presente invenção é obtido por ligação em conjunto, de pelo menos os polissacarídeos T1 e T2, onde os monossacarídeos a partir dos quais os polissacarídeos T1 e T2 são constituídos são parcial ou totalmente ligados através de ligações alfa-1,4-glicosídicas, e pelo menos um dos polissacarídeos T1 e / ou T2 tem pelo menos um grupo amino, pelo menos, um ligante Z ligado quimicamente com T1 e T2 por ligações covalentes, e em que T1 e / ou T2 carregam grupos m (L - A).

[0060] A presente invenção também diz respeito a uma formulação farmacêutica compreendendo o produto de ligação de acordo com a invenção.

[0061] A formulação farmacêutica pode ser usada para a profilaxia de aderência e cicatrizes. Surpreendentemente, verificou-se que a aplicação do produto de ligação segundo a invenção na forma de um hidrogel pode evitar cicatrizes e principalmente na aderência. Isto é de grande importância, em particular, no cuidado pós-operatório de pacientes.

[0062] Em adição, a formulações farmacêuticas da presente invenção podem ser usadas para parar hemorragias, ou a formulação farmacêutica é usada como um fluido sinovial.

[0063] Em adição, tem se mostrado surpreendentemente que os produtos de ligação da presente invenção podem ser usados na terapia e profilaxia de cicatrização de feridas. Assim, é preferível para os produtos de ligação da presente invenção

serem usados para coberturas de feridas. O produto pode ser incorporado no curativo como um hidrogel, sólido ou líquido. Em adição, os produtos de ligação de acordo com a invenção são usados como implantes. Em particular, quando os produtos de ligação de acordo com a invenção foram fornecidos com heparina ou derivados de heparina ou ácido hialurônico, verificou-se que eles apresentam excelentes propriedades, em particular, em artigos médicos em contato com os fluidos do tecido ou órgão. Os produtos de acordo com a invenção também podem ser adicionados aos implantes ou artigos médicos apenas como um aditivo.

[0064] Em adição, a presente invenção ainda diz respeito à utilização do produto de ligação de acordo com a invenção como um aditivo para ou para a preparação de gel para o cabelo, detergentes e produtos de cuidados, loções de modelagem de cabelo, agentes de tingimento e agentes de cuidados, material de implante, cimento ósseo, como uma matriz de epitelização e colonização por células endógenas, material de sutura, próteses vasculares, cateteres vasculares, stents e cateteres da veia central.

[0065] A presente invenção também se refere a um processo para preparar o produto de ligação de acordo com a invenção.

[0066] O processo para a preparação do produto de ligação de acordo com a invenção é efetuado por ligação de pelo menos um polissacarídeo T1 com pelo menos um polissacarídeo T2 para formar o ligante Z através do qual T1 e T2 são covalentemente ligados um com o outro, e em que T1 e / ou T2 carregam grupos  $m - (L - A)$ , onde

- A é uma substância medicinalmente ativa e / ou um marcador de fluorescência;

- L é um segundo ligante através do qual T1 e / ou T2 é covalentemente ligado com A, e

- m é um inteiro de 0 ou, pelo menos, 1.

[0067] Para T1, T2, A, Z, L e m, se aplicam as modalidades preferidas como colocadas acima.

[0068] Em uma modalidade preferida do processo de acordo com a invenção, os polissacarídeos T1 e / ou T2 são hidroxietilamido aminado e / ou amido carboximetil aminado.

[0069] Em uma modalidade mais preferida do processo de acordo com a invenção, os polissacarídeos T1 e / ou T2 são primeiramente ligados a um composto medicinalmente ativo A, seguido por efetuar a formação do ligante Z.

[0070] Em uma modalidade particularmente preferida do processo de acordo com a presente invenção, o processo é realizado pelas seguintes etapas:

a) aaminação redutiva de um hidroxietilamido;

b) ligação do hidroxietilamido aminado obtido na etapa a) com heparina por aaminação redutiva; e

c) ligação do produto obtido na etapa b) com hidroxietilamido para formar um ligante Z.

[0071] Mais preferencialmente, a ligação dos polissacarídeos T1 e / ou T2 conforme definido acima é efetuada através do segundo ligante L com a substância medicinalmente ativa A. Para produzir o ligante L para a substância medicinalmente ativa A, de preferência heparina, moléculas preferencialmente

bifuncionais e trifuncionais são empregadas que têm idênticos ou diferentes grupos funcionais capazes de reagir com os grupos funcionais da heparina, ou seja, também com os grupos funcionais do polissacarídeo (s). No entanto, as ligações indesejáveis entre as moléculas heparina e moléculas de polissacarídeo (retro-cruzamento) podem ocorrer. Estes produtos de reação competem com as ligações desejáveis entre heparina e polissacarídeos T1 e / ou T2. Portanto, moléculas bipolifuncionais com diferentes grupos funcionais reagindo com um grupo funcional presente apenas na heparina por um lado ou reagindo com um grupo funcional presente apenas no polissacarídeo, por outro lado, são particularmente adequadas. Isso geralmente requer uma alteração química correspondente por parte do polissacarídeo (T1 e / ou T2), menos freqüentemente, da heparina. O rendimento de produtos de ligação de acordo com a invenção pode ser significativamente aumentado pela imobilização de heparina aos órgãos de ligação adequados.

[0072] Para os grupos carboxi presentes em amidos carboximetil, compostos selecionados do grupo de diepoxialcanos, de preferência tendo 4 a 16 átomos de carbono, especialmente 1,2,3,4-diepoxibutano, 1,2,7,8-diepoxioctano, ou, alternativamente glutaraldeído, são empregados como ligantes. Sob valores de pH ácido, de preferência na faixa de 2 a 4, diepoxialcanos formam ligações éster, enquanto formam ligações éter em uma faixa de pH alcalino (pH > 10). Glutaraldeído reage com ligações éster de preferência em um pH abaixo de 4. Para a formação de ligações éster, grupos carboxialquila podem ser introduzidos nos polímeros de amido.

Particularmente preferidas são hidroxietil carboximetilamidos com um DS para grupos carboximetil de 0,03 a 0,1, e um DS para grupos hidroxietil de 0,2 a 0,3, e um peso molecular de 30.000 a 300.000. Em muitas moléculas pequenas de heparina com 1 a 4 porções de sacarídeo, a ligação ao polissacarídeo pode causar a livre extensão da molécula de heparina linear do polissacarídeo.

[0073] Em uma modalidade particular da presente invenção, os grupos amino são introduzidos em um hidroxialquilaamido ou carboxialquilamido por aminação redutiva. Com os grupos amino introduzidos do polissacarídeo, por exemplo, os grupos aldeído terminais da glucosaminoglucana, como a heparina ou o ácido hialurônico, podem ser introduzidos de tal maneira que o resto da molécula de heparina permanece livre. Os grupos amino introduzidos por aminação redutiva são também utilizados para a ligação covalente com grupos radicais tendo grupos carboxi, grupos aldeído terminais, halogenetos de ácido carboxílico, carboxialquis ou ésteres.

[0074] A aminação redutiva dos polissacarídeos T1 e / ou T2 alfa-1,4-glicosidicamente ligados é vantajosamente realizada com amônia, alquilaminas, dialquilaminas ou hidróxido de amônio na presença de um catalisador de redução. Esta redução é efetuada preferencialmente em uma atmosfera de hidrogênio sob pressão e temperatura elevadas. Por exemplo, catalisadores de Raney níquel ou cobalto / níquel e / ou catalisadores de rutênio são empregados como catalisadores. As pressões e temperaturas empregadas na aminação redutiva com o hidrogênio estão dentro de uma faixa de 80 a 250 °C, de preferência 100 a 200 °C, e pressões de 2 a 50 bar, de preferência 5 a 20 bar. O

polialquilamido aminado, por exemplo, hidroxialquilamido, pode reagir, por exemplo, com os grupos aldeído de medicamentos, por exemplo, heparina ou derivados de heparina, para formar uma imina. Na próxima etapa, a imina é reduzida a uma amina. O grupo amino do polissacarídeo aminado, em seguida, reage com o grupo aldeído da substância medicinalmente ativa para formar uma base Schiff. A última é reduzida a uma amina por um agente adequado de redução selecionado do grupo de hidretos contendo sal, hidreto de alumínio de lítio, borohidreto de lítio, borohidreto de sódio, ou cianoborohidreto de sódio. Nesta etapa, deve-se considerar que os polissacarídeos aminados, por exemplo, hidroxialquilamidos, também têm um grupo aldeído terminal cada. O uso de polissacarídeos aminados permite um processo adicional em duas etapas. Em uma primeira etapa separada, o glucosaminoglucano desenhado para a modalidade é oxidado em uma lactona, que está ligada com o grupo amino do hidroxialquilamido aminado em mais uma etapa para formar uma amida de ácido carboxílico. Preferencialmente, o processo de acordo com Hashimoto é usado (Hashimoto et al. *Kunststoffe, Kautschuk, Fasern*, vol. 9 (1992), páginas 1271 a 1279).

[0075] Em uma modalidade particularmente preferida, os grupos amino dos polissacarídeos T1 e / ou T2 podem ser usados para a ligação covalente, especialmente de heparinas.

[0076] A invenção será ainda ilustrada pelos seguintes Exemplos, mas sem ser limitada pelos mesmos.

#### Exemplos

##### Exemplo 1

[0077] 200 g de hidroxietilamido com peso molecular de 50.000 e uma substituição molar de 0,3 é carregado em uma autoclave, juntamente com uma solução de hidróxido de amônio a 27% e, juntamente com 400 g de um catalisador de níquel / cobre / cromo tendo um teor de níquel de 75 %, um teor de cobre de 23% e um teor de cromo de 2%. A autoclave é pressurizada com hidrogênio, durante um período de 12 horas gradualmente com as etapas de 100 bar, 150 bar, 170 bar. Antes de cada aumento de pressão, uma amostra é colhida, dialisada e liofilizada.

[0078] A temperatura é aumentada para 220 °C. Posteriormente, a mistura é removida, dialisada e liofilizada. 200 mg de heparina é dissolvido em 5 ml de PBS (tampão fosfato salino), pH 7,5, e pipetado em um vaso de reação. 200 mg do hidroxietilamido redutivamente aminado é dissolvido em 10 ml de água destilada, e a solução é cuidadosamente adicionada. Depois disso, 0.025 mg de cianoborohidreto de sódio  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  é misturado. A Placa de Petri é cuidadosamente balanceada. Depois de duas horas, novamente 0,025 mg do cianoborohidreto de sódio é adicionado, e a mistura é cuidadosamente agitada até que bolhas cessem de surgir. A adição de cianoborohidreto de sódio é repetida quatro vezes da mesma maneira. Posteriormente, o reagente é deixado em repouso por 72 horas; finalmente, é retomado em um excesso de PBS, pH = 7,5, dialisado e liofilizado.

[0079] 200 mg do reagente é dissolvido em 200 ml de água destilada. A mistura é ajustada para pH 10, adicionando uma solução de 1 N de NaOH / acetona (30/70), e agitando. 0,2 ml de 1,2,7,8-diepoxi octano é pipetado na placa, seguido por

agitação. A adição de 0,2 ml de 1,2,7,8-diepoxi octano é repetida a cada 10 horas. Após 46 horas, a solução é removida, dialisada contra água destilada e liofilizada. O reagente é retomado em 10 ml de PBS, pH = 7,5.

#### Exemplo 2

[0080] 200 g de hidroxietilamido, com peso molecular de 50.000 e uma substituição molar de 0,4 é dissolvido em uma solução de hidróxido de amônio a 27%.

[0081] A solução é carregada em uma autoclave, juntamente com 400 g de um catalisador de níquel/cobre/cromo. A autoclave é pressurizada com hidrogênio, durante um período de 12 horas gradualmente com etapas de 100 bar, 150 bar, 170 bar. Antes de cada aumento de pressão, uma amostra é colhida, dialisada e liofilizada. A temperatura é aumentada para 270 °C. Posteriormente, a mistura é removida, dialisada e liofilizada. As amostras colhidas são dissolvidas em 5 ml de PBS (pH 7,5) juntamente com 200 mg de heparina. 200 mg do hidroxietilamido aminado redutivamente é dissolvido em 10 ml de água destilada, e a solução é cuidadosamente adicionada. Depois disso, 0.025 mg de cianoborohidreto de sódio  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  é misturado. A Placa de Petri é cuidadosamente agitada. Depois de duas horas, novamente 0,025 mg do cianoborohidreto de sódio é adicionado, e a mistura é cuidadosamente agitada até que bolhas cessem de surgir. A adição de cianoborohidreto de sódio é repetida quatro vezes da mesma maneira. Posteriormente, o reagente é deixado em repouso por 24 horas. Finalmente, o reagente é retomado em um excesso de PBS (pH = 7,5), dialisado e liofilizado.

[0082] 200 mg de um carboximetilamido com um DS de 0,4 é dissolvido em 200 ml junto com o reagente. A mistura é ajustada para pH 10, adicionando uma solução de 1 N de NaOH / acetona (30/70), e agitando. 0,4 ml de 1,2,7,8-diepoxioctano é pipetado na placa, seguido por agitação. Após 12 horas, a solução é removida, dialisada contra água destilada e liofilizada. O reagente é retomado em 10 ml de PBS (pH = 7,5).

### Exemplo 3

[0083] Ligação de um hidroxietilamido aminado com heparina marcada com fluorescência por aminação reductiva e ligação dos produtos da reação juntos por outra aminação reductiva com glutaraldeído.

a) Acoplamento de heparina (HEP) com o marcador de fluorescência 2-aminopiridina

[0084] Para uma solução de 2-aminopiridina (31,7 g, 0,33 mol, 1000 equ.) e NaCNBH<sub>3</sub> (2,1 g, 0,033 mol, 100 equ.) em formamida (50 ml), heparina (5,0 g) é adicionado. A suspensão obtida é agitada a 37 °C durante a noite, e uma solução clara é formada lentamente. A solução de reação é derramada em EtOH (50 ml). O sólido precipitado é filtrado para fora e seco. Heparina marcada com fluorescência (HEP\*) é obtida como um sólido ligeiramente bege (1,3 g).

b) Aaminação do hidroxietilamido (HES)



[0085] HES40 (5,1 g, MW: 40 kDa) é dissolvido em uma solução aquosa de hidróxido de amônio (100 ml, 22%). O catalisador consistindo de níquel (5,6 g, 325 mesh), cromo (0,15 g, 100

mesh) e cobre (1,8 g, 1 µm) é adicionado à solução. A mistura é agitada sob atmosfera de hidrogênio a 120 °C em autoclave por 48 horas. Após o resfriamento a 20 °C, o catalisador é filtrado para fora, e o filtrado é derramado em etanol (20 ml). O sólido precipitado é filtrado para fora, lavado com pouco etanol / água e seco. O HES aminado é obtido como um sólido levemente azulado (1,2 g).

c) Aaminação redutiva do HES obtido na etapa b) com a heparina marcada com fluorescência (HEP\*) obtida na etapa a)

[0086] HEP\* (200 mg) é dissolvido em uma solução aquosa de tampão fosfato (5 ml, pH = 7,5), e uma solução de hidroxietilamido aminado da etapa b) (200 mg) em água destilada (10 ml) é adicionado gota a gota. Em intervalos de 2 horas, NaCNBH<sub>3</sub> é adicionado seis vezes (0,025 mg cada, a partir de uma solução de estoque aquosa) para a solução de reação. A mistura de reação é mais uma vez agitada a 20 °C por 2 horas. Para a purificação adicional, o produto bruto é dialisado por 24 horas. Após a remoção da água por evaporação, o produto de ligação de HES aminado e heparina marcada com fluorescência é obtido como um sólido incolor. Ambos em solução aquosa e como um sólido, o composto apresenta uma fluorescência verde-amarela intensa quando irradiado com luz UV em 366 nm.

d) Aaminação redutiva de várias moléculas de heparina marcada com fluorescência / hidroxietilamido obtidas nas etapas a), b) e c) com glutaraldeído

[0087] A heparina marcada com fluorescência / hidroxietilamido obtida nas etapas a), b) e c) (0,5 mg) é dissolvida em uma solução aquosa de tampão fosfato (0,25 ml,

pH = 7,5) e misturada com glutaraldeído (0,25 ml, 25% até peso) a 20 °C. Em intervalos de 2 horas, NaCNBH<sub>3</sub> é adicionado três vezes (0,01 mg cada) na solução de reação e dissolvido por agitação. A mistura é deixada em repouso durante a noite. Um precipitado bege é formado. O produto da reação é precipitado com álcool etílico, e o solvente é evaporado. O sólido apresenta uma fluorescência verde-amarela quando irradiado com luz UV em 366 nm.

#### Exemplo 4

[0088] Ligação de um hidroxietilamido aminado com heparina marcada com fluorescência e ácido hialurônico por aminação redutiva e ligação dos produtos de reação juntos por outra aminação redutiva com glutaraldeído.

[0089] Ácido hialurônico (2 mg) é dissolvido em uma solução aquosa de tampão fosfato (1,5 ml, pH = 7,5) e misturado com o produto da reação das etapas a), b) e c) do Exemplo 3 dissolvido em água. Em intervalos de 2 horas, NaCNBH<sub>3</sub> é adicionado duas vezes (0,01 mg cada) na solução de reação e dissolvido por agitação. A mistura é deixada em repouso durante a noite.

[0090] Então, glutaraldeído (0,25 ml, 25% em peso) é misturado a 20 °C. Em intervalos de 2 horas, NaCNBH<sub>3</sub> é adicionado duas vezes (0,01 mg cada) na solução de reação e dissolvido por agitação. A mistura é deixada em repouso por toda a noite, dializada e liofilizada.

#### Exemplo 5

[0091] Ligação de um HES aminado com CMS

[0092] Duas partes de peso do HES redutivamente aminado como no Exemplo 3 são dissolvidas em uma solução aquosa de tampão fosfato (pH = 7,5) juntamente com 1 parte do peso de CMS (carboximetilamido), MW 100 kDa. Em intervalos de 2 horas, NaCNBH<sub>3</sub> é adicionado quatro vezes (0,025 mg) para a solução de reação até se formar um sólido bege. O solvente é evaporado do produto da reação.

[0093] Reagentes utilizados nos Exemplos:

Sal de heparina sódica (de origem suína), pH = 7, média de MW = 12-15 kDa, fabricante: Changzhou Qianhong Bio-Pharma Co., Ltd., Jiangsu, China.

HES40: hidroxietilamido tendo um peso molecular médio de MW = 40 kDa, grau de substituição DS = 0,3; fabricante: BBraun, Crissier, Suíça.

Cianoborohidreto de sódio, NaBH<sub>3</sub>CN, Acros Organics, New Jersey, EUA.

Glutardialdeído (25% em peso), Acros Organics, New Jersey, EUA.

Sal de heparina sódica (de origem suína), pH = 7, média de MW = 12-15 kDa, fabricante: Changzhou Qianhong Bio-Pharma Co., Ltd., Jiangsu, China.

HES40: Hidroxietilamido tendo um peso molecular médio de MW = 40 kDa, grau de substituição DS = 0,3; fabricante: BBraun, Crissier, Suíça.

Cianoborohidreto de sódio, NaBH CN 3, Acros Organics, New Jersey, EUA.

Glutardialdeído (25% em peso), Acros Organics, New Jersey, EUA.

Ácido hialurônico de *Streptococcus equi*, Alfa Aesar, Ward Hill, Massachusetts, EUA.

**REIVINDICAÇÕES:**

1. Produto de ligação compreendendo pelo menos os polissacarídeos T1 e T2, caracterizado pelo fato de que

a) os monossacarídeos a partir dos quais os polissacarídeos T1 e T2 são constituídos serem parcial ou totalmente ligados através de ligações alfa-1,4-glicosídicas, e

b) pelo menos um dos polissacarídeos T1 e / ou T2 tem pelo menos um grupo amino, e

c) T1 e T2 são ligados quimicamente por ligações covalentes por meio de pelo menos um ligante Z; e

d) T1 e / ou T2 carregam grupos  $m - (L - A)$ , onde

- A é uma substância ativa medicinal;

- L é um segundo ligante através do qual T1 e/ou T2 está ligado de forma covalente com A; e

- m é um inteiro de pelo menos 1 em que a substância ativa medicinal A é heparina ou sulfato de heparina e em que os polissacarídeos T1 e T2 são independentemente selecionados de hidroxialquilamidos.

2. Produto de ligação de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por os polissacarídeos T1 e T2 terem pelo menos um grupo  $-NH_2$  e serem independentemente selecionados do grupo consistindo de hidroxietilamido aminado,

carboximetilamido aminado, carboxietilamido aminado, hidroxietil-carboximetilamido aminado e hidroxialquilamido aminado.

3. Produto de ligação de acordo com pelo menos uma das reivindicações 1 a 2, caracterizado por os polissacarídeos T1 e / ou T2 terem um peso molecular médio de 20.000 a 800.000 dalton, de preferência de 25.000 a 500.000 dalton, especialmente de 30.000 a 200.000 dalton e terem um amido modificado.

4. Produto de ligação de acordo com pelo menos uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado por os polissacarídeos T1 e / ou T2 serem hidroxietilamido com um grau de substituição, DS, de 0,2 a 0,8, de preferência de 0,3 a 0,6.

5. Produto de ligação de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o polissacarídeo T1 tendo grupos amino é selecionado do grupo consistindo de hidroxialquilamido aminado, hidroxialquila-carboxialquilamido aminado, e carboxialquilamido aminado.

6. Produto de ligação de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a substância medicinalmente ativa é a heparina, o polissacarídeo T1 e / ou T2 é um hidroxietilamido, e L é um ligante do grupo -NH.

7. Produto de ligação de acordo com pelo menos uma das reivindicações de 1 a 6, caracterizado por ser na forma de um líquido, hidrogel, filme, ou sólido.

8. Formulação farmacêutica caracterizada por compreender o composto de acordo com pelo menos uma das reivindicações 1 a 7.

9. Uso de um produto de ligação de acordo com pelo menos qualquer uma das reivindicações de 1 a 8, caracterizado por ser como uma cobertura de ferida ou implante; ou como um aditivo para géis de cabelo, detergentes e produtos de cuidados, loção de modelagem de cabelo, agente de tingimento e agente de cuidados, material de implante, cimento ósseo, como uma matriz de epitelização e colonização por células endógenas, material de sutura, próteses vasculares, cateteres vasculares, stents e cateteres da veia central.

10. Uso de um produto de ligação de acordo com pelo menos uma das reivindicações de 1 a 8, caracterizado por ser na preparação de um medicamento para interromper o sangramento, ou para o tratamento de cicatrização de feridas ou fluido sinovial.

11. Processo para preparar um produto de ligação de acordo com pelo menos qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pela ligação de pelo menos um polissacarídeo T1 com pelo menos um polissacarídeo T2 para formar o ligante Z através do qual T1 e T2 são covalentemente ligados um com

o outro, e em que T1 e / ou T2 carregam grupos m - (L - A), onde

- A é uma substância medicinalmente ativa;
- L é um segundo ligante através do qual T1 e / ou T2 é covalentemente ligado com A, e
- m é um inteiro de pelo menos 1, onde a substância ativa medicinal A é heparina ou sulfato de heparina, o processo especialmente compreendendo as seguintes etapas:

a) aaminação redutiva de um hidroxietilamido;

b) ligação do hidroxietilamido aminado obtido na etapa a) com heparina por aaminação redutiva; e

c) ligação do produto obtido na etapa b) com hidroxietilamido para formar um ligante Z.