

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 381 417**

51 Int. Cl.:
C08B 37/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08832986 .7**
96 Fecha de presentación: **26.09.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2199308**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.06.2010**

54 Título: **Polvo de ácido hialurónico reticulado hinchable y procedimiento para fabricarlo**

30 Prioridad:
28.09.2007 JP 2007253639

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.05.2012

73 Titular/es:
**SHISEIDO COMPANY, LTD.
5-5 GINZA 7-CHOME
CHUO-KU TOKYO 104-8010, JP**

72 Inventor/es:
MATSUMOTO, Tetsunori

74 Agente/Representante:
Arpe Fernández, Manuel

ES 2 381 417 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

Polvo de ácido hialurónico reticulado hinchable y procedimiento para fabricarlo

5 La presente invención se refiere a un polvo de ácido hialurónico reticulado hinchable y a un procedimiento para la producción del mismo y, concretamente, versa sobre un polvo de ácido hialurónico reticulado con una excelente capacidad de inflado y un procedimiento para producirlo con facilidad.

CAMPO DE LA INVENCION

10 Un gel de hialuronano reticulado en el que un hialuronano se somete a un proceso de reticulado resulta excelente en términos de biocompatibilidad y de biodegradabilidad, es decir, degradación in vivo acaecida con el paso del tiempo, produciéndose eventualmente su desaparición. Convencionalmente, la aplicación del gel de hialuronano reticulado ha sido objeto de investigación y desarrollo activos, para poder aplicar el gel de hialuronano reticulado mediante la
15 utilización de sus características a un agente de prevención de adherencias, a un agente reparador óseo, a un compuesto para la liberación controlada de fármacos, a un material para la regeneración de tejidos y así sucesivamente. Por ejemplo, un ejemplo típico muy conocido de la aplicación a un material regenerador de tejidos es una inyección antiarrugas, en el campo de la cirugía estética.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

20 Cuando el gel de hialuronano reticulado se utiliza, por ejemplo, en inyecciones anti-arrugas, el gel reticulado ha de tener una mayor densidad y una mayor viscoelasticidad para garantizar un cierto volumen en la porción de la inyección. Asimismo, cuando el gel de hialuronano reticulado se utiliza como una preparación para la liberación controlada de fármacos, es necesaria una retención in vivo durante un período de tiempo prolongado para mantener un efecto adecuado del medicamento a lo largo de un determinado período de tiempo. Por lo tanto, resulta deseable
25 disponer de un gel de hialuronano reticulado con una densidad y viscoelasticidad elevadas.

30 Convencionalmente, el gel de hialuronano reticulado se ha preparado mediante un proceso que incluye la disolución de un hialuronano sólido en agua, añadiendo un agente reticulante y una base para conseguir una reacción de reticulado, y eliminando las impurezas (sobrante del agente reticulante y de la base) del gel de hialuronano reticulado resultante (documento N° 1 de la patente).

35 No obstante, y dado que el hialuronano posee un elevado peso molecular, cuando se disuelve en agua, incluso a bajas concentraciones, la viscoelasticidad de la solución acuosa resulta muy elevada. Por lo tanto, se requiere mucho tiempo y un sustancial esfuerzo para disolver el hialuronano en agua a escala industrial, especialmente cuando aumenta la concentración del hialuronano, para obtener un gel de hialuronano reticulado de alta densidad, ya que aumenta considerablemente la viscosidad de la fase líquida. Por lo tanto, los procesos de mezclado uniforme del hialuronano con un agente reticulante y una base en una solución acuosa, agitándolos y eliminándolos mediante
40 diálisis o un procedimiento similar resulta muy complicado. Así pues, se ha convertido en un problema que requiere invertir grandes cantidades de tiempo y esfuerzo.

45 Asimismo, un hialuronano reticulado tiene básicamente una elevada capacidad de hincharse por efecto del agua, y una gran viscoelasticidad, por lo que resulta problemática su manipulación durante las etapas de almacenamiento, preparación del gel o inyección en un cuerpo vivo. Por tanto, se ha hecho necesaria la obtención de un gel de hialuronano reticulado en polvo, que pueda utilizarse como el gel deseado añadiendo agua en el momento de su utilización. Asimismo, desde el punto de vista de la reducción de la carga que representa la inyección para el cuerpo humano y permitir su retención en el cuerpo vivo durante un período prolongado de tiempo, también se espera la consecución de un procedimiento para la obtención de un hialuronano reticulado en forma de polvo e inyectar
50 directamente el polvo en un cuerpo vivo.

55 El gel de hialuronano reticulado, como el que se describe en el documento N° 1 de la Patente, se obtiene reticulando un hialuronano disuelto en agua. Por lo tanto, para obtener un polvo de hialuronano reticulado mediante dicho procedimiento convencional, se producía un gel de hialuronano reticulado, y posteriormente, el gel se secaba hasta obtener el polvo. Sin embargo, el polvo del gel de hialuronano reticulado seco soltaba el agua sin hincharse, incluso cuando se añadía agua al polvo, y por tanto, no se vuelve a obtener un gel como el existente antes de proceder a su secado.

60 Asimismo, el documento N° 2 de la patente describe un polvo obtenido mediante la reticulación de un hialuronano en una mezcla líquida formada por agua y acetona, seguido de un secado por calor. No obstante, el polvo de hialuronano reticulado obtenido mediante este procedimiento también posee escasa utilidad práctica como gel, a causa de su relativamente baja capacidad de hinchamiento en agua, para obtener un estado líquido aproximadamente viscoso.

65 Documento de patente N° 1: Patente japonesa N° 60-130641

Documento de patente N° 2: Publicación de Patente japonesa sin examinar N° 60-130641

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

5 PROBLEMA QUE HA DE RESOLVER LA INVENCIÓN

La presente invención se ha realizado teniendo en cuenta la tecnología convencional que acaba de describirse y, para resolver dichos problemas, se facilita un polvo de hialuronano reticulado con una excelente capacidad de hinchado en agua, así como un procedimiento para producirlo de forma sencilla.

10

MEDIOS PARA LA RESOLUCIÓN DEL PROBLEMA

Los creadores de la presente invención han llevado a cabo profundos estudios, teniendo en cuenta los problemas de la tecnología convencional descritos anteriormente y, como resultado, han llegado a la conclusión de que se puede producir fácilmente polvo de hialuronano reticulado hinchable en agua mezclando un agente reticulante con hialuronano en polvo en dispersión en un medio líquido que contenga un alcohol monovalente de baja graduación y que no disuelva el hialuronano en polvo para crear una reacción de reticulación, y han llegado a la conclusión de que el hialuronano en polvo reticulado hinchable obtenido mediante este procedimiento se hincha notablemente en agua para convertirse en un gel de hialuronano reticulado con una viscoelasticidad excelente. De este modo se ha realizado la presente invención. Así pues, el problema en torno al cual gira la presente invención se resuelve mediante el objeto de las reivindicaciones independientes 1 y 3.

Es decir que el polvo de hialuronano reticulado hinchable conforme a la presente invención se hincha en agua en una proporción del 500% o superior.

25

Por otra parte, el polvo de hialuronano reticulado hinchable presenta una concentración de hialuronano del 0,1 al 20% en peso cuando el polvo se hincha por efecto del agua hasta su límite máximo.

30

Por otra parte, el procedimiento de obtención del hialuronano en polvo reticulado hinchable de acuerdo con la presente invención se caracteriza porque comprende la mezcla de un agente reticulante con un hialuronano en polvo en estado de dispersión en un medio líquido que contiene un alcohol monovalente que tiene entre 1 y 4 átomos de carbono y con una solubilidad del hialuronano en polvo inferior a 0,1 g/l para producir una reacción de reticulado.

35

En el procedimiento de producción del hialuronano en polvo reticulado, el medio líquido consiste preferiblemente en una mezcla disolvente del alcohol monovalente y agua.

En el procedimiento de producción del hialuronano en polvo reticulado hinchable, el alcohol monovalente es preferiblemente etanol o 2-propanol.

40

En el procedimiento de producción del hialuronano en polvo reticulado hinchable, el coeficiente de mezclado del alcohol monovalente con agua es preferiblemente de 99,9:0,1 a 65:35 como proporción de masas.

En el procedimiento de producción del hialuronano en polvo reticulado hinchable, el agua consiste preferiblemente en una solución tampón alcalina o una solución tampón ácida.

45

En el procedimiento de producción del hialuronano en polvo reticulado hinchable, el agente reticulante es preferiblemente divinil sulfona, éter diglicídico de 1,4-butanodiol y/o éter diglicídico de etileno glicol.

50

Adicionalmente, el procedimiento de producción del hialuronano en polvo reticulado hinchable conforme a la presente invención se caracteriza porque comprende las siguientes etapas (1) y (2):

(1) mezcla de un agente reticulante con hialuronano en polvo en estado de dispersión en un disolvente que contenga un alcohol monovalente que tenga de 1 a 4 átomos de carbono y una solución tampón alcalina y que presente una solubilidad del hialuronano en polvo inferior a 0,1 g/L, para provocar una reacción de reticulación; y

55

(2) mezcla de un agente reticulante con el producto de la etapa (1) en estado de dispersión en un disolvente que contenga un alcohol monovalente que tenga de 1 a 4 átomos de carbono y que presente una solubilidad del hialuronano en polvo inferior a 0,1 g/L para provocar una reacción de reticulación;

60

En el procedimiento de producción del hialuronano en polvo reticulado hinchable, la proporción de la mezcla del alcohol monovalente con la solución tampón alcalina o la solución tampón ácida, es preferiblemente de 99,9:0,1 a 65:35 como proporción de masas.

En el procedimiento de producción del hialuronano en polvo reticulado hinchable, el agente reticulante es preferiblemente divinil sulfona, éter diglicídico de 1,4-butanodiol y/o éter diglicídico de etileno glicol.

65

EFECTO DE LA INVENCION

De acuerdo con la presente invención, puede obtenerse con facilidad hialuronano en polvo reticulado hinchable mediante la ejecución de una reacción de reticulación en un estado de dispersión del hialuronano en polvo, sin tener que realizar los complicados procesos realizados con los procedimientos convencionales. Por lo tanto, resulta muy útil desde el punto de vista del tiempo y el coste. Además, el hialuronano en polvo reticulado obtenido mediante la presente invención presenta una elevada capacidad de hinchado en agua cuando el polvo se hincha con agua, así como una excelente viscoelasticidad.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

La figura 1 incluye unas vistas fotográficas de las muestras de hialuronano en polvo reticulado, preparadas en los ejemplos 1 y 5 de la presente invención, en estado de hinchamiento, con una cantidad excesiva de agua destilada ((a): ejemplo 1, (b): ejemplo 5).

La figura 2 incluye unas vistas fotográficas de las muestras de hialuronano en polvo reticulado preparadas en los ejemplos 1 y 5 de la presente invención, en su estado seco ((a): ejemplo 1, (b): ejemplo 5).

La figura 3 incluye unos gráficos en los que se compara la viscoelasticidad dinámica del gel de hialuronano preparado en el ejemplo 13 de la presente invención y los geles de hialuronano obtenidos a partir de geles de hialuronano reticulado disponibles en el comercio, elaborados a través de procedimientos convencionales ((a): ejemplo 13, (b): ejemplo comparativo 7. (c): ejemplo comparativo 8).

La figura 4 incluye gráficos en los que se compara la viscoelasticidad dinámica de los geles de hialuronano preparados en los ejemplos 13 y 14 de la presente invención ((a): ejemplo 13, (b): ejemplo 14).

La figura 5 incluye gráficos en los que se compara la viscoelasticidad dinámica de los geles de hialuronano preparados en los ejemplos 14 a 17 de la presente invención ((a): ejemplo 14, (b): ejemplo 15, (c): ejemplo 16, (d): ejemplo 17).

PROCEDIMIENTO PREFERIDO DE REALIZACION DE LA INVENCION

El hialuronano en polvo reticulado conforme a la presente invención presenta un coeficiente de hinchado en agua del 500% o superior.

En este caso, el término "un coeficiente de hinchado en agua del 500% o superior" se refiere a que cuando una cierta cantidad del hialuronano en polvo reticulado hinchable se hincha con una gran cantidad de agua pura para obtener un gel de hialuronano reticulado, el peso del gel de hialuronano reticulado hinchado es del 500% o superior, para un peso del hialuronano en polvo reticulado del 100%, o lo que es lo mismo, el polvo se hincha cinco veces o más.

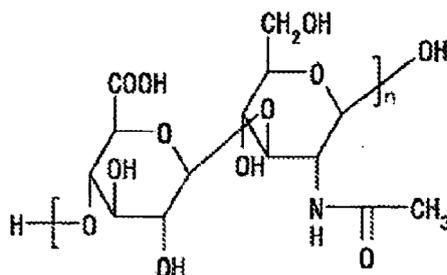
Asimismo, la concentración del hialuronano cuando el hialuronano en polvo reticulado hinchable se encuentra hinchado al máximo con agua oscila entre un 0,1 y un 20% en peso. Por lo tanto, el hialuronano en polvo reticulado hinchable conforme a la presente intención tiene un coeficiente de hinchado de 500 a 100.000%.

El hialuronano en polvo reticulado hinchable conforme a la presente invención puede aplicarse al sector de la medicina, de la cosmética o similares, directamente o mezclado en una fórmula adecuada. Asimismo, concretamente, el hialuronano en polvo reticulado de acuerdo con la presente invención puede volver a hincharse partiendo del estado de polvo, por lo que puede aplicarse adecuadamente a un material utilizado in vivo, por ejemplo, un material de regeneración de los tejidos, como una inyección anti-arrugas, un compuesto para la liberación controlada de fármacos, un agente de prevención de las adherencias o un agente reparador óseo.

Asimismo, el hialuronano en polvo reticulado hinchable según la presente invención puede hincharse en agua y utilizarse posteriormente con las finalidades indicadas, como un gel de hialuronano reticulado.

Además, el procedimiento de producción del hialuronano en polvo reticulado hinchable de acuerdo con la presente invención, el hialuronano en polvo en estado de dispersión en un medio líquido que contenga un alcohol monovalente que contenga de 1 a 4 átomos de carbono y no disuelva el hialuronano en polvo se mezcla con un agente reticulante para llevar a cabo una reacción de reticulación.

El hialuronano en polvo utilizado en el procedimiento de producción de la presente invención es un polímero de cadena recta en el que los residuos de N-acetil-D-glucosamina y ácido D-glucurónico se acoplan alternativamente entre sí como se muestra en la fórmula siguiente, y el polímero de cadena recta puede utilizarse sin limitaciones particulares, siempre que se presente en forma de polvo.



El hialuronano puede obtenerse mediante, por ejemplo, extracción y aislamiento, a partir de la cresta de gallo o de otros tejidos animales, o mediante fermentación, utilizando microorganismos como el estreptococo. Asimismo, en la presente invención, puede utilizarse polvo de un derivado del hialuronano, por ejemplo, una sal metálica de un hialuronano o una sal potásica de un hialuronano, o un derivado de hialuronano en el que el grupo hidroxilo, el grupo carboxilo u otro grupo de un hialuronano se eterifique, esterifique, amidifique, acetalice o quetalice.

Asimismo, el hialuronano en polvo puede ser cualquiera que se encuentre disponible comercialmente. Entre los ejemplos de hialuronano disponible comercialmente se encuentran el Biohyalo 12 (fabricado por Siseido Co., Ltd.) y el Hyaluronan (fabricado por Kibun Foods, Inc.).

El peso molecular del hialuronano en polvo utilizado en el procedimiento de producción de la presente invención no presenta ninguna limitación específica, pero es preferiblemente de 100000 o superior, y más preferiblemente, de entre 500000 y 3000000. Por lo general, los pesos moleculares de casi todos los hialuronanos utilizados es de 100000 o superior, por lo general, pero algunos hialuronanos tienen un peso molecular especialmente bajo, de en torno a 10000. Si se utilizase en la presente invención uno de dichos hialuronanos de bajo peso molecular, situado en torno a 10000, podría no obtenerse un gel de hialuronano reticulado con la viscoelasticidad deseada cuando el hialuronano en polvo reticulado hinchable se hinche por efecto del agua. Por lo tanto, este tipo de hialuronano no resulta tan deseable.

Asimismo, cuando un hialuronano en polvo se disuelve en un medio líquido, la solución resultante es un líquido viscoso transparente. Por otro lado, cuando un hialuronano en polvo se dispersa en un medio líquido sin disolverse en el mismo, se observa la presencia de partículas dispersas del hialuronano en polvo en el medio líquido. Además, con el procedimiento de producción de la presente invención, dado que el hialuronano en polvo se ha dispersado en forma de polvo, sin disolverse, en un medio líquido, se ve sometido a una reacción de reticulación sin que se produzca ningún aumento en la viscosidad de la fase líquida e incluso puede tratarse con facilidad una dispersión que contenga el hialuronano en una elevada concentración. En el procedimiento de producción de la presente invención, la concentración del hialuronano en polvo para la reacción de reticulación no se encuentra sujeta a limitaciones especiales, siempre que ello no perjudique la reacción de reticulación. Es posible tratar el hialuronano en una elevada concentración de en torno a un 5% en peso y en volumen, pero la concentración oscilará preferiblemente entre un 0,1 y un 30% en peso y volumen y, más preferiblemente, entre un 1 y un 20% en peso y volumen para la mezcla correspondiente a la reacción de reticulación.

El medio líquido utilizado en el procedimiento de producción de la presente invención contiene un alcohol monovalente que tenga entre 1 y 4 átomos de carbono y no disuelva el hialuronano en polvo.

El alcohol monovalente que tiene entre 1 y 4 átomos de carbono incluye, sin limitación, metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, 2-metil-1-propanol, 2-butanol, y 2-metil-2-propanol. Entre ellos, pueden resultar preferibles especialmente el 1-propanol y el 2-propanol. En la presente invención, se prefiere especialmente la utilización del etanol o del 2-propanol.

Incidentalmente, en el procedimiento de producción de la presente invención, por ejemplo, cuando se utiliza un alcohol polivalente, como el etileno glicol, el medio disuelve el hialuronano en polvo, y cuando se utiliza una cetona, como la acetona, el coeficiente de hinchado en agua del hialuronano en polvo reticulado resultante puede ser inferior a un 500%, con lo que no se obtendría el gel de hialuronano reticulado deseado.

En la presente invención, el término "no disuelve el hialuronano en polvo" se refiere específicamente a que la solubilidad del hialuronano en polvo es inferior a 0,1 g/L (25° C).

Entre los ejemplos del medio líquido utilizado en el procedimiento de producción de la presente invención se incluye una mezcla disolvente del alcohol monovalente mencionado anteriormente y agua. En este caso, si el coeficiente de mezcla de agua en la mezcla de disolvente es demasiado elevado, el medio líquido disuelve el hialuronano en polvo para aumentar la viscosidad de la fase líquida, con el consiguiente aumento en el grado de dificultad de su manipulación. Esto dificulta la producción de un hialuronano en polvo reticulado hinchable. Por lo tanto, la proporción de masas entre el alcohol monovalente y el agua (alcohol monovalente:agua) de la mezcla de disolvente es

preferiblemente de 99.9:0,1 a 65:35. Asimismo, la proporción de masas entre el alcohol monovalente y el agua (alcohol monovalente:agua) es más preferiblemente de 99.9:0,1 a 85:15.

5 El agente reticulante utilizado en el procedimiento de producción de la presente invención puede ser cualquier agente que pueda reticularse entre las cadenas de polímeros del hialuronano mediante enlaces químicos. Pueden utilizarse como agente reticulante del hialuronano diversos compuestos polifuncionales que tengan dos o más grupos funcionales que formen enlaces covalentes al reaccionar con los grupos funcionales reactivos de la molécula del hialuronano, como un grupo carboxilo, un grupo hidroxilo o un grupo acetamida. Entre los ejemplos del agente reticulante utilizado en la presente invención se incluyen compuestos diepoxi alquilo, como el diepóxido de 1,3-butadieno, 1,2,7,8-diepoxooctano, y diepóxido de 1,5-hexadieno; compuestos de diglicidil éter, como el diglicidil éter de etileno glicol, el diglicidil éter de 1,4-butanodiol, y el diglicidil éter de bisfenol A; sulfona de divinilo; y apicloridrina. Entre ellos, preferiblemente pueden utilizarse la sulfona de divinilo, el diglicidil éter de 1,4-butanodiol, y el diglicidil éter de etileno glicol. Asimismo, en la presente invención puede utilizarse una combinación arbitraria de dos o más agentes de reticulación.

15 Por otra parte, en el procedimiento de producción de la presente invención, la cantidad mezclada del agente reticulante no está sujeta a especiales limitaciones, pero específicamente, oscila preferiblemente entre un 0,1 y un 10% en peso y volumen, y más preferiblemente, entre un 0,5 y un 5% en peso y volumen en la mezcla dispuesta para la reacción de reticulación.

20 Además, en el procedimiento de producción de la presente invención, para mejorar la reactividad del hialuronano a lo largo de la reacción de reticulación, el pH de la mezcla puede ajustarse adecuadamente añadiendo a la misma un ácido, como ácido clorhídrico o sulfúrico, una base como hidróxido sódico o hidróxido potásico, o una solución tampón adecuada, como un fosfato o amonio cuaternario para la reacción de reticulación, si bien la reacción de reticulación puede llevarse a cabo en condiciones alcalinas o ácidas.

25 Por ejemplo si la reacción de reticulación se lleva a cabo en condiciones alcalinas, utilizando una solución tampón alcalina 0,001 a 0,1 N en lugar de agua como medio líquido, el grupo hidroximetilo de la molécula del hialuronano formará un enlace de éter con el agente reticulante, para conseguir la reticulación.

30 Asimismo, si la reacción de reticulación se lleva a cabo en condiciones de acidez, utilizando una solución tampón ácida 0,001 a 0,1 N en lugar de agua como medio líquido, el grupo carboxilo de la molécula del hialuronano formará un enlace de éster con el agente reticulante, para conseguir la reticulación.

35 En un hialuronano en polvo reticulado hinchable preparado mediante la reacción de reticulación en condiciones ácidas o básicas, el coeficiente de hinchado cuando el polvo se hincha por efecto del agua es incluso mayor que el de un polvo preparado utilizando agua como medio líquido, y el gel de hialuronano reticulado obtenido presenta una viscoelasticidad excelente. Asimismo, la viscoelasticidad del gel de hialuronano reticulado también varía en función de la concentración de cada una de las soluciones tampón, y en general, se da una tendencia a que la pérdida del módulo elástico disminuya cuando se produce un incremento en la concentración de álcali, para obtener de este modo un gel con unas excelentes propiedades de conservación de la forma. Por lo tanto, durante la producción del hialuronano en polvo reticulado hinchable conforme a la presente invención, puede obtenerse un gel de hialuronano reticulado cuyas características de viscoelasticidad y capacidad de hinchado se ajustan a la finalidad u objetivo, o pueden conseguirse controlando las condiciones de acidez o de alcalinidad durante la reacción de reticulación.

45 Asimismo, en el procedimiento de producción de la presente invención, además de los componentes esenciales mencionados anteriormente, pueden añadirse previamente a la mezcla para la reacción de reticulación componentes habitualmente utilizados en aplicaciones de medicina o cosmética, en una gama de concentraciones que no afecta a la finalidad ni a los efectos de la presente invención. Entre los ejemplos de los componentes que pueden añadirse se incluyen los agentes humectantes, como el ácido ascórbico y sus derivados, y la glicerina, así como los agentes antiinflamatorios, como el retinol y sus derivados, y el ácido salicílico.

50 En el procedimiento de producción de la presente invención, el tiempo de reacción de la reacción de reticulación varía, por ejemplo, en función de las cantidades mezcladas del hialuronano en polvo utilizado como materia prima, así como del agente reticulante y de las propiedades físicas del hialuronano en polvo reticulado que pretende obtenerse, y suele oscilar entre 30 minutos y 100 horas, y más preferiblemente, entre 1 hora y 72 horas.

55 Asimismo, en el procedimiento de producción de la presente invención, la reacción de reticulación puede ser realizada en presencia de calor para acortar el tiempo de reacción, al acelerar la misma. La temperatura de reacción puede ajustarse entre 20 y 120° C, pero es más preferiblemente de entre 25° y 90° C. Asimismo, con posterioridad a la reacción de reticulación, puede obtenerse un gel de hialuronano reticulado en polvo llevando a cabo una separación sólidos-líquido mediante un procedimiento conocido, como el centrifugado o filtrado, y lavando y secando a continuación el polvo resultante mediante cualquier procedimiento conocido.

65 Asimismo, en el procedimiento de producción de la presente invención, las propiedades físicas, como el coeficiente de hinchado en agua y la viscoelasticidad del hialuronano en polvo reticulado hinchable resultante pueden

modificarse variando la temperatura de reacción, el tiempo de reacción, los tipos y las concentraciones del hialuronano en polvo y el agente reticulante utilizado, y así sucesivamente. Por lo tanto, estas condiciones pueden determinarse adecuadamente en función de las propiedades físicas del hialuronano en polvo reticulado hinchable que se pretende obtener.

5 Asimismo, el procedimiento de producción de acuerdo con la presente invención incluye un procedimiento para producir un hialuronano en polvo hinchable con doble reticulado, como otra de sus realizaciones.

10 En este documento, el término "doble reticulado" se refiere a que tanto el grupo hidroxilo como el grupo carboxilo de una molécula de hialuronano se aplican a la reacción de reticulación con un agente reticulante.

En la presente invención, el hialuronano en polvo hinchable con doble reticulado puede producirse mediante las siguientes etapas (1) y (2):

15 (1) mezcla de un agente reticulante con hialuronano en polvo en estado de dispersión en un disolvente que contenga un alcohol monovalente que tenga de 1 a 4 átomos de carbono y una solución tampón alcalina y que presente una solubilidad del hialuronano en polvo inferior a 0,1 g/L para provocar una reacción de reticulación; y
20 (2) mezcla de un agente reticulante con el producto de la etapa (1) en estado de dispersión en un disolvente que contenga un alcohol monovalente que tenga de 1 a 4 átomos de carbono y una solución tampón ácida y que presente una solubilidad del hialuronano en polvo inferior a 0,1 g/L para provocar una reacción de reticulación;

La etapa (1) indica que la reacción de reticulación se lleva a cabo en condiciones de alcalinidad para obtener entrecruzamientos de éteres en la molécula de hialuronano, y la etapa (2) indica que la reacción de reticulación se lleva a cabo en condiciones de acidez para formar entrecruzamientos de ésteres en la molécula de hialuronano.

25 Por lo tanto, en las etapas (1) y (2), por ejemplo, el hialuronano en polvo, el disolvente y el compuesto relativo a la reacción de reticulación pueden ajustarse a lo anteriormente descrito.

30 Los agentes de reticulación de las etapas (1) y (2) son preferiblemente el mismo, y pueden utilizarse preferiblemente un diglicidil éter, como la sulfona de divinilo, el diglicidil éter de 1,4-butanodiol, o el diglicidil éter de etileno glicol.

A continuación se explicará un ejemplo de un procedimiento de producción de hialuronano hinchable en polvo con doble reticulado, si bien constituye tan sólo un ejemplo y no limita la presente invención.

35 (ejemplo de producción de hialuronano en polvo reticulado hinchable)

Se mezcla un agente reticulante con un disolvente líquido preparado mezclando un alcohol monovalente que tenga de 1 a 4 átomos de carbono y una solución acuosa de hidróxido sódico 0,01 a 0,1 N con una relación de masa de 99,9:0,1 a 65:35. A continuación se añade hialuronano en polvo para su dispersión, seguido de una reacción de reticulación en unas condiciones apropiadas. Tras la reacción de reticulación, el hialuronano en polvo se recoge mediante centrifugado, filtrado o similar, y se lava y se seca mediante un procedimiento conocido para obtener un hialuronano en polvo reticulado hinchable

45 A continuación el hialuronano en polvo reticulado hinchable se añade a una mezcla líquida formada por un agente reticulante y un disolvente líquido preparado mezclando un alcohol monovalente que tenga de 1 a 4 átomos de carbono y una solución acuosa de ácido clorhídrico 0,01 a 0,1 N con una relación de masa de 99,9:0,1 a 65:35 para su dispersión, realizándose de nuevo una reacción de reticulación en las condiciones adecuadas. Igualmente, tras la reacción de reticulación, el hialuronano en polvo se recoge mediante filtrado, y se lava y se seca para obtener un hialuronano en polvo hinchable con doble reticulado.

50 La propiedad de conservación de la forma del gel de hialuronano reticulado hinchado con agua tiende a aumentar gracias a la doble reticulación, en comparación con el caso en el que el reticulado se lleva a cabo en condiciones de acidez o alcalinidad. Además, la viscoelasticidad del gel puede ajustarse mediante el control de la concentración de la solución tampón alcalina y ácida, y en general, una concentración básica más elevada aporta un gel con una mayor elasticidad.

55 Dicho hialuronano en polvo hinchable con doble reticulación y el gel obtenido a partir del polvo presentan unas propiedades físicas que son similares a la llamada elasticidad de la piel, por lo que resultan especialmente adecuadas para su utilización como un material regenerador de tejidos, como una inyección contra arrugas.

60 Casualmente, cuando la reacción de reticulación en condiciones alcalinas se efectúa tras la reacción de reticulación en condiciones de acidez, existe una tendencia a que el entrecruzamiento del éster previamente formado se hidrolice a causa de la exposición a las condiciones alcalinas y, al mismo tiempo, se impida la formación de entrecruzamientos de éter en el grupo hidroxilo. El hialuronano en polvo obtenido de este modo y el gel obtenido a partir del polvo tienen una baja viscoelasticidad y capacidad de hinchamiento, por lo que no resultan adecuados para

65

su utilización como material de regeneración de los tejidos, pero por otra parte, se espera que se utilicen como un agente humidificador en cosmética.

5 Dado que un procedimiento convencional para producir un gel de hialuronano reticulado utiliza el agua como medio líquido, la viscosidad es muy elevada, aun cuando la concentración de la solución acuosa de hialuronano sea baja.

10 Por otra parte, en el procedimiento de la presente invención, teniendo en cuenta que el hialuronano en polvo se encuentra en dispersión en un medio líquido, al tiempo que mantiene su forma en polvo sin que se produzca su disolución, no se produce un aumento de la viscosidad de la fase líquida. Por lo tanto, la dispersión puede mezclarse y agitarse fácilmente con un agitador magnético, una varilla agitadora, un agitador o similares. Asimismo, al no producirse tampoco un aumento de la viscosidad de la fase líquida, es posible tratar una dispersión del hialuronano a elevadas concentraciones.

15 Asimismo, de acuerdo con el procedimiento de producción de la presente invención, la etapa de disolución del hialuronano en agua, que por lo general precisa mucho tiempo, ya no es necesaria. Además, y dado que el hialuronano reticulado que se ha generado puede separarse con facilidad, por ejemplo mediante centrifugado o filtrado, las etapas para la eliminación del agente reticulante, del ácido, de la base, etc. pueden simplificarse enormemente en comparación con las del procedimiento convencional. Por lo tanto, y de acuerdo con el procedimiento de producción de la presente invención, es posible producir con gran facilidad un hialuronano reticulado, en comparación con el procedimiento convencional, utilizando una solución acuosa de hialuronano, por lo que se reducen significativamente el tiempo y los costes de fabricación.

20 Asimismo, en el procedimiento convencional de producción, el hialuronano reticulado se obtiene como un gel que contiene agua. Cuando el hialuronano en polvo reticulado obtenido mediante el secado del gel mediante un procedimiento conocido se introduce de nuevo en agua, el polvo libera el agua o se disuelve en el agua sin volver a hincharse.

25 Por otra parte, el hialuronano en polvo reticulado hinchable obtenido mediante el procedimiento de la presente invención tiene un coeficiente de hinchado notablemente elevado, del 500% o más. Es decir, de acuerdo con la presente invención, puede obtenerse un hialuronano en polvo reticulado "hinchable", lo que era convencionalmente imposible de obtener.

EJEMPLOS

35 A continuación se describirá más detalladamente la presente invención haciendo referencia a ejemplos específicos, aunque no se limita a estos ejemplos.

40 Los inventores de la presente invención han tratado en primer lugar de preparar un hialuronano en polvo reticulado hinchable mezclando un agente reticulante con un hialuronano en polvo en estado de dispersión en una mezcla disolvente formada por alcohol monovalente de baja graduación y agua.

Ejemplos 1 y 2

45 Se añadió un hialuronano en polvo (Biohyalo 12, peso molecular: 1200000, fabricado por Shiseido Co., Ltd.) procediéndose a su dispersión para obtener una concentración del 3.3% en peso y volumen en una solución de reacción preparada mezclando 10 partes de una solución acuosa de hidróxido sódico 0.1 N, 87 partes de etanol, y 3 partes de un agente reticulante (éter diglicídico de etileno glicol: Denacol EX-810P, fabricado por Nagase Chemicals Co., Ltd.) para llevar a cabo una reacción de reticulación a temperatura ambiente (ejemplo 1) o a 45° C (ejemplo 2) durante 16 horas. Una vez completada la reacción, el hialuronano en polvo se recogió por filtrado y posteriormente se lavo con etanol y se secó. El hialuronano en polvo reticulado resultante se hinchó con un exceso de agua destilada para obtener unos geles de hialuronano reticulado transparentes y entre incoloros y blancos, tanto en condiciones de temperatura ambiente (ejemplo 1) como en presencia de calor, a 45° C (ejemplo 2). En esta ocasión, el coeficiente de hinchado (en peso) de cada hialuronano en polvo reticulado era del 500% o más.

55 La figura 1(a) muestra una vista fotográfica del hialuronano en polvo reticulado, hinchado mediante un exceso de agua destilada, preparado en condiciones de temperatura ambiente en el ejemplo 1, y la figura 2(a) es una vista fotográfica del mismo en estado seco. El tamaño del gel de hialuronano en polvo reticulado en estado hinchado fue de entre 2 y 7 mm.

Ejemplo 3

60 Se trató de preparar un hialuronano en polvo reticulado como en los ejemplos 1 y 2 precedentes en condiciones de temperatura ambiente, con la excepción de que se utilizaron 3 partes de divinil sulfona como agente reticulante, en lugar de las 3 partes de éter diglicídico de etileno glicol. El hialuronano en polvo reticulado resultante se hinchó con un exceso de agua destilada para obtener un gel de hialuronano reticulado transparente y entre incoloro y blanco. El

tamaño del gel de hialuronano en polvo oscilaba entre 1 y 5 mm. Además, el coeficiente de hinchado (en peso) de cada hialuronano en polvo reticulado era del 500% o más.

Ejemplo 4

Se trató de preparar un hialuronano en polvo reticulado como en los ejemplos 1 y 2 precedentes, en condiciones de temperatura ambiente, con la excepción de que se utilizaron 3 partes de éter diglicídico de 1,4-butanodiol como agente reticulante, en lugar de las 3 partes de éter diglicídico de etileno glicol. El hialuronano en polvo reticulado resultante se hinchó con un exceso de agua destilada para obtener un gel de hialuronano reticulado transparente y entre incoloro y blanco. El tamaño del gel de hialuronano en polvo oscilaba entre 2 y 8 mm. Además, el coeficiente de hinchado (en peso) de cada hialuronano en polvo reticulado era del 500% o más.

Ejemplos 5 y 6

Se trató de preparar un hialuronano en polvo reticulado como en los ejemplos 1 y 2 precedentes, con la excepción de que se utilizaron 10 partes de agua destilada en lugar de las 10 partes de una solución acuosa de hidróxido de sodio 0,1 N. El hialuronano en polvo reticulado resultante se hinchó con un exceso de agua destilada para obtener unos geles de hialuronano reticulado transparentes y entre incoloros y blancos, tanto en condiciones de temperatura ambiente (ejemplo 5) como en presencia de calor, a 45° C (ejemplo 6). En esta ocasión, el coeficiente de hinchado (en peso) de cada hialuronano en polvo reticulado era del 500% o más.

La figura 1(b) muestra una vista fotográfica del hialuronano en polvo reticulado, en estado de hinchamiento con un exceso de agua destilada, preparada en condiciones de temperatura ambiente en el ejemplo 5, y la figura 2(b) es una vista fotográfica del mismo en estado seco. Las dimensiones del gel de hialuronano reticulado en estado de hinchamiento era de entre 0,1 a 0,5 mm.

Las materias primas utilizadas en los ejemplos 1 a 6 precedentes, las condiciones de la reacción y los resultados de la misma se muestran en la siguiente tabla 1.

Tabla 1

Ejemplos

	1	2	3	4	5	6
Ácido Hialurónico	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3
Solución acuosa de hidróxido sódico 0,1 N	10	10	10	10	-	-
Agua destilada	-	-	-	-	10	10
Etanol	87	87	87	87	87	87
Diglicidil éter de etileno glicol	3	3	-	-	3	3
Sulfona de divinilo	-	-	3	-	-	-
Éter de 1,4-butanodiol	-	-	-	3	-	-
Temperatura de la reacción	TA	45°C	TA	TA	TA	45°C
Producción de gel de ácido hialurónico reticulado (coeficiente de hinchado del 500% o superior)	o	o	o	o	o	o

Si se observan los ejemplos 1 a 6 precedentes, es evidente que puede obtenerse un hialuronano en polvo reticulado hinchable con un coeficiente de hinchado en agua del 500% utilizando una mezcla disolvente formada por etanol y agua (etanol: agua = 10.3:89.7) y efectuando una reacción de reticulación en el estado de dispersión del hialuronano en polvo en la mezcla disolvente en condiciones de temperatura ambiente, en presencia de calor a 45°C, y utilizando cada uno de los agentes de reticulación.

Además, en los ejemplos 1 a 6 precedentes, teniendo en cuenta que el hialuronano en polvo no se disolvió en el medio líquido durante la reacción de reticulación, no se produjo un aumento de la viscosidad de la fase líquida, el tratamiento, como la agitación, resultó muy sencillo, el producto pudo separarse con facilidad mediante filtrado.

Asimismo, se confirmó, en las figuras 1 y 2, que con el polvo del ejemplo 1, al que se ha añadido una base, podía obtenerse un gel formado por partículas de gran tamaño, desarrollando una reacción de reticulación (figuras 1(a) y 2(a)). Por otra parte, con el polvo del ejemplo 5, al que no se ha añadido una base, se obtuvo un gel de hialuronano reticulado de partículas diminutas. Dado que cada una de dichas partículas se hinchó con agua pura, se confirmó la formación de reticulados en el interior de la partícula (figuras 1(b) y 2(b)). Además, la concentración del hialuronano cuando este hialuronano en polvo reticulado se hinchó al máximo en agua osciló entre 0.1 y 20% en peso, y es evidente que pudo obtenerse un gel de hialuronano reticulado con unas excelente propiedades de hinchado y viscolasticidad.

Posteriormente, los inventores de la presente invención han tratado de preparar un hialuronano en polvo reticulado hinchable como en el ejemplo 2 precedente, alterando arbitrariamente la relación de masa etanol/agua para investigar la proporción de mezcla de un alcohol monovalente de baja graduación con agua.

5 Ejemplo 11

Se trató de preparar un hialuronano en polvo reticulado como en el ejemplo 2 precedente, con la excepción de que se utilizaron 20 partes de agua destilada y 77 partes de etanol. El hialuronano en polvo reticulado resultante se hinchó con un exceso de agua destilada para obtener un gel de hialuronano reticulado transparente y entre incoloro y blanco, con un coeficiente de hinchado del 500% o más con respecto al polvo.

Ejemplo 12

15 Se trató de preparar un hialuronano en polvo reticulado como en el ejemplo 2 precedente, con la excepción de que se utilizaron 30 partes de agua destilada y 67 partes de etanol. El hialuronano en polvo reticulado resultante se hinchó con un exceso de agua destilada para obtener un gel de hialuronano reticulado transparente y entre incoloro y blanco, con un coeficiente de hinchado del 500% o más con respecto al polvo.

Ejemplo comparativo 3

20 Se trató de preparar un hialuronano en polvo reticulado como en el ejemplo 2 precedente, con la excepción de que se utilizaron 40 partes de agua destilada y 57 partes de etanol. Como resultado, el hialuronano en polvo se disolvió en la mezcla disolvente, imposibilitando la mezcla por agitación. Por tanto, finalizó el tratamiento.

25 Las materias primas utilizadas en los ejemplos 11 a 12 precedentes, así como en el ejemplo comparativo 3, las condiciones de la reacción y los resultados de la misma se muestran en la siguiente Tabla 3.

Tabla 3

30 Ejemplos Ejemplos comparativos

	2	11	12		3	
Ácido Hialurónico	3,3	3,3	3,3		3,3	
Agua destilada	10	20	30		40	
Etanol	87	77	67		57	
Agente reticulante	3	3	3		3	
Etanol : Agua (Relación de masa)	89,7:10,3	79,4:20,6	69,1:30,9		58,8:41,2	
Temperatura de la reacción	TA	TA	TA		TA	
Producción de gel de ácido hialurónico reticulado (coeficiente de hinchado del 500% o superior)						
	o	o	o		o	

35 En la tabla 3 puede apreciarse que es evidente que cuando se utiliza una mezcla disolvente de etanol/agua con una relación de masa de aproximadamente 90:10 a 70:30, la solubilidad del hialuronano en el disolvente es de 0,1 g/L para obtener un hialuronano reticulado hinchable en forma de polvo. Adicionalmente se confirmó que los tamaños de partícula de los geles de hialuronano reticulado preparados mediante hinchamiento del polvo precedente con agua aumentaron en proporción a la cantidad de agua (ejemplo 2 < ejemplo 11 < ejemplo 12).

40 No obstante, como puede apreciarse en el Ejemplo Comparativo 3, la viscosidad de la fase líquida aumentó cuando la proporción de agua superó el 40%, lo que dificultó la mezcla por agitación. Por lo tanto, no pudo producirse un hialuronano reticulado en polvo.

45 Los inventores de la presente invención han profundizado en sus investigaciones y han confirmado que el hialuronano en polvo no se disuelve en una mezcla disolvente hasta que la proporción de masas entre el alcohol monovalente y el agua (alcohol monovalente:agua) se sitúa en torno a 65:35 y puede producirse con facilidad el hialuronano reticulado hinchable en polvo.

50 Los inventores de la presente invención compararon los geles de hialuronano reticulado preparados a partir del polvo obtenido en el ejemplo 2 precedente, para investigar la capacidad de hinchamiento de los hialuronanos reticulados en forma de polvo preparados mediante los distintos procedimientos. Los resultados se muestran en la tabla 4 a continuación.

Ejemplo comparativo 4

5 Se liofilizó un gel de hialuronano reticulado disponible comercialmente (Restylane, fabricado por Q-Med AB, Suecia) para reducirlo a polvo. El polvo resultante se combinó con un exceso de agua destilada para que volviese a hincharse. El polvo soltó el agua y no se consiguió un gel de hialuronano reticulado como el original.

Ejemplo comparativo 5

10 Se liofilizó un gel de hialuronano reticulado disponible comercialmente (Hylaform, fabricado por Genzyme Corp. EE.UU.) para reducirlo a polvo. El polvo resultante se combinó con un exceso de agua destilada para que volviese a hincharse. El polvo soltó el agua y no se consiguió un gel de hialuronano reticulado como el original.

Ejemplo comparativo 6

15 El hialuronano reticulado en polvo preparado en el ejemplo 2 se hinchó con un exceso de agua destilada para obtener un gel hialuronano reticulado. El gel se liofilizó para reducirlo a polvo. El polvo resultante se mezcló con un exceso de agua destilada para que volviese a hincharse. El polvo soltó el agua y no se consiguió un gel de hialuronano reticulado como el original.

20 Tabla 4

Ejemplo 2	Ejemplo comparativo 4	Ejemplo comparativo 5	Ejemplo comparativo 6
Producción de gel de ácido hialurónico reticulado (coeficiente de hinchado del 500% o superior)			
o	X	X	X

25 Como puede apreciarse en la tabla 4 precedente, resulta evidente que no puede obtenerse un gel de hialuronano reticulado volviendo a hinchar el polvo obtenido mediante secado de un gel de hialuronano reticulado. Por lo tanto, el procedimiento de producción de la presente invención es adecuado para obtener un hialuronano reticulado "hinchable" en polvo con un coeficiente de hinchado de 500% o superior.

30 Se evaluó la viscoelasticidad dinámica de los geles de hialuronano reticulado que se muestran en el siguiente ejemplo y en los ejemplos comparativos. Los resultados se muestran en la figura 3 (figura 3(a): ejemplo 13, (b): ejemplo comparativo 7, (c): ejemplo comparativo 8).

(Medida de la viscoelasticidad dinámica)

35 Se midieron el módulo elástico de almacenamiento G' (Pa) y el módulo elástico de pérdida G'' (Pa) dentro del rango de frecuencias angulares situado entre 0.1 y 100 (1/s) con un reómetro de tensión controlada (AR1000-N) fabricado por TA Instruments.

Ejemplo 13

40 Se añadió hialuronano en polvo (Biohyalo 12, peso molecular: 1200000, fabricado por Shiseido Co., Ltd.), dispersándose para obtener una concentración del 3.3 % en peso y volumen en 10 partes de una solución acuosa de hidróxido de sodio 0.1 N y 87 partes de etanol, añadiéndose 3 partes de un agente reticulante (Diglicidil éter de etileno glicol: Denacol EX-810P, fabricado por Nagase Chemicals Co., Ltd.) y mezclándose con la dispersión para llevar a cabo una reacción de reticulación a 90° C durante 1 hora. Una vez completada la reacción, se recogió el polvo de hialuronano y se lavó con etanol, secándose para obtener hialuronano reticulado en polvo hinchable. El polvo se añadió a una solución fisiológica salina en una concentración del 2% en peso para que se hinchara. El gel de hialuronano reticulado resultante se utilizó para medir la viscoelasticidad.

Ejemplo Comparativo 7

50 Se utilizó un gel de hialuronano reticulado disponible comercialmente (Restylane, fabricado por Q-Med AB, Suecia) para la medición de la elasticidad.

Ejemplo Comparativo 8

55 Se utilizó un preparado de hialuronano disponible comercialmente (Hylaform, fabricado por Genzyme Corp. EE.UU.) para la medición de la viscolasticidad.

60 Como se observa en la figura 3, el gel de hialuronano reticulado (ejemplo 13) obtenido a través del procedimiento conforme a la presente invención presenta una excelente viscolasticidad, situada en una posición intermedia entre los geles de hialuronano reticulado comercialmente disponibles (Ejemplos Comparativos 7 y 8) que se utilizan como inyecciones anti-arrugas.

Se ha sugerido que los geles de hialuronano reticulado de los ejemplos comparativos 7 y 8 se obtienen mediante una reacción de reticulación en una solución acuosa de hialuronano y se forman directamente sin pasar por su formato en polvo.

5 De los anteriores resultados se observa claramente que el hialuronano reticulado hinchable en polvo obtenido a través del procedimiento conforme a la presente invención puede hincharse para convertirse en un gel que posee una excelente viscoelasticidad y que puede utilizarse como material para la regeneración de los tejidos. El polvo presenta una excelente elasticidad, que no depende de cada frecuencia, y que por tanto, se piensa que resulta adecuado, concretamente, como inyección antiarrugas.

10 Posteriormente se midió la viscoelasticidad dinámica de los geles de hialuronano reticulado que se muestran en el ejemplo 13, descrito anteriormente, y el ejemplo 14, descrito a continuación, para comparar las características. Los resultados se muestran en la figura 4 (figura 4(a): ejemplo 13, (b): ejemplo 14). La viscoelasticidad dinámica se midió de acuerdo con el procedimiento precedente.

15 Ejemplo 14

Se añadió hialuronano en polvo (Biohyalo 12, peso molecular: 1200000, fabricado por Shiseido Co., Ltd.) y se dispersó hasta obtener una concentración del 3.3 % en peso y volumen en 10 partes de una solución acuosa de hidróxido de sodio 0.001 N y 87 partes de etanol y se añadieron 3 partes de un agente reticulante (Diglicidil éter de etileno glicol: Denacol EX-810P, fabricado por Nagase Chemicals Co., Ltd.), mezclándose con la dispersión para llevar a cabo una reacción de reticulación a 90° C durante 1 hora. Una vez completada la reacción, se recogió el polvo de hialuronano por filtrado y se lavó con etanol, secándose para obtener hialuronano reticulado en polvo hinchable. El polvo se añadió a una solución fisiológica salina en una concentración del 2% en peso para que se hincharse. El gel de hialuronano reticulado resultante se utilizó para medir la viscoelasticidad.

Como se muestra en la figura 4, los geles de hialuronano reticulado de los ejemplos 13 y 14, preparados a partir del hialuronano reticulado en polvo hinchable conforme a la presente invención mostraron una excelente viscoelasticidad. Concretamente, la dependencia de la frecuencia en lo que respecta al módulo elástico de almacenamiento (G') y el módulo elástico de pérdida (G'') del gel del ejemplo 13, en el que la concentración alcalina en el sistema de producción era elevada, fue inferior a la del gel del ejemplo 14.

De cuanto antecede se observa claramente que el hialuronano reticulado en polvo obtenido mediante la utilización de un medio líquido que contenga una solución tampón alcalina 0.001 a 0.1 N con el procedimiento de producción conforme a la presente invención permite obtener un gel de hialuronano reticulado con una excelente viscoelasticidad. Concretamente, con una mayor concentración alcalina durante la reacción de reticulación se puede obtener un gel con unas mejores propiedades elásticas frente a la deformación.

Además, se midió la viscoelasticidad dinámica de los geles de hialuronano reticulado mostrados en el ejemplo 14 anterior y los ejemplos 15 a 17 que figuran a continuación para comparar las características. Los resultados se muestran en la figura 5 (figura 5(a): ejemplo 14, (b): ejemplo 15, (c): ejemplo 16, (d): ejemplo 17). La viscoelasticidad dinámica se midió de acuerdo con el procedimiento mencionado anteriormente.

45 Ejemplo 15

Se añadió hialuronano en polvo (Biohyalo 12, peso molecular: 1200000, fabricado por Shiseido Co., Ltd.) y se dispersó para conseguir una concentración del 3.3% en peso y volumen en 10 partes de una solución acuosa de ácido clorhídrico 0.001 N y 87 partes de etanol, añadiéndose 3 partes de un agente reticulante (Diglicidil éter de etileno glicol: Denacol EX-810P, fabricado por Nagase Chemicals Co., Ltd.) y mezclándose con la dispersión para llevar a cabo una reacción de reticulación a 90° C durante 1 hora. Una vez completada la reacción, se recogió el polvo de hialuronano por filtrado y se lavó con etanol, secándose para obtener hialuronano reticulado en polvo hinchable. El polvo se añadió a una solución fisiológica salina en una concentración del 2% en peso para que se hincharse. El gel de hialuronano reticulado resultante se utilizó para medir la viscoelasticidad.

55 Ejemplo 16

Se añadió hialuronano en polvo (Biohyalo 12, peso molecular: 1200000, fabricado por Shiseido Co., Ltd.) y se dispersó para conseguir una concentración del 3.3% en peso y volumen en 10 partes de una solución acuosa de ácido clorhídrico 0.001 N y 87 partes de etanol, añadiéndose 3 partes de un agente reticulante (Diglicidil éter de etileno glicol: Denacol EX-810P, fabricado por Nagase Chemicals Co., Ltd.) y mezclándose con la dispersión para llevar a cabo una reacción de reticulación a 90° C durante 1 hora. Una vez completada la reacción, se filtró la mezcla para recoger el residuo, el cual se lavó posteriormente con etanol y se dejó secar para obtener un hialuronano reticulado en polvo.

65 A continuación, Se añadió el hialuronano reticulado en polvo y se dispersó hasta obtener una concentración del 3.3 % en peso y volumen en 10 partes de una solución acuosa de ácido clorhídrico 0.001 N y 87 partes de etanol y se

añadieron 3 partes de un agente reticulante (Diglicidil éter de etileno glicol: Denacol EX-810P, fabricado por Nagase Chemicals Co., Ltd.), mezclándose con la dispersión para llevar a cabo una reacción de reticulación a 90° C durante 1 hora. Una vez completada la reacción, se recogió el polvo de hialuronano por filtrado y se lavó con etanol, secándose para obtener hialuronano reticulado en polvo hinchable. El polvo se añadió a una solución fisiológica salina en una concentración del 2% en peso para que se hinchase. El gel de hialuronano reticulado resultante se utilizó para medir la viscoelasticidad.

Ejemplo 17

Se añadió hialuronano en polvo (Biohyalo 12, peso molecular: 1200000, fabricado por Shiseido Co., Ltd.) y se dispersó para conseguir una concentración del 3.3% en peso y volumen en 10 partes de una solución acuosa de ácido clorhídrico 0.001 N y 87 partes de etanol, añadiéndose 3 partes de un agente reticulante (Diglicidil éter de etileno glicol: Denacol EX-810P, fabricado por Nagase Chemicals Co., Ltd.) y mezclándose con la dispersión para llevar a cabo una reacción de reticulación a 90° C durante 1 hora. Una vez completada la reacción, se filtró la mezcla para recoger el residuo, el cual se lavó posteriormente con etanol y se dejó secar para obtener un hialuronano reticulado en polvo.

A continuación, se añadió el hialuronano reticulado en polvo y se dispersó hasta obtener una concentración del 3.3 % en peso y volumen en 10 partes de una solución acuosa de hidróxido de sodio 0.001 N y 87 partes de etanol y se añadieron 3 partes de un agente reticulante (Diglicidil éter de etileno glicol: Denacol EX-810P, fabricado por Nagase Chemicals Co., Ltd.), mezclándose con la dispersión para llevar a cabo una reacción de reticulación a 90° C durante 1 hora. Una vez completada la reacción, se recogió el polvo de hialuronano por filtrado y se lavó con etanol, secándose para obtener hialuronano reticulado en polvo hinchable. El polvo se añadió a una solución fisiológica salina en una concentración del 2% en peso para que se hinchase. El gel de hialuronano reticulado resultante se utilizó para medir la viscoelasticidad.

Como se muestra en la figura 5, los geles hinchados por efecto del agua de los dos hialuronanos reticulados en polvo del ejemplo 14, en el que la reticulación se llevó a cabo en condiciones alcalinas, y el hialuronano reticulado en polvo del ejemplo 15, en el que se llevó a cabo un entrecruzamiento de ésteres en condiciones de acidez, mostraron una excelente viscoelasticidad, sin que ello dependiese de la frecuencia angular. Asimismo, el gel hinchado con agua procedente del hialuronano en polvo con doble reticulado preparado en el ejemplo 16, en el cual se llevó a cabo el entrecruzamiento de los ésteres tras el entrecruzamiento de los éteres, también presentó una elevada viscoelasticidad, pero se observó que el módulo elástico de pérdida (G'') era inferior al de los ejemplos 14 y 15.

Por otra parte, en el ejemplo 17 en el que se llevó a cabo el entrecruzamiento de los éteres con posterioridad al entrecruzamiento de los ésteres, la viscoelasticidad disminuyó notablemente en función de la frecuencia angular.

En base a cuanto antecede, resulta evidente que el hialuronano reticulado en polvo hinchable preparado mediante la reacción de reticulación en condiciones de acidez o alcalinidad a través del procedimiento de producción conforme a la presente invención proporciona un gel de hialuronano reticulado con una excelente viscoelasticidad. Además, el hialuronano reticulado en polvo hinchable preparado mediante la realización de una reacción de reticulación en condiciones alcalinas, llevando a cabo otra vez posteriormente una reacción de reticulación en condiciones de acidez, permite facilitar un gel con unas notables propiedades elásticas frente a la deformación.

Asimismo, por ejemplo, cuando el gel de hialuronano reticulado se utiliza como agente antiarrugas, se considera que el hialuronano en polvo doblemente reticulado resulta más ventajoso desde el punto de vista de la resistencia a la degradación enzimática in vivo, además de tener una mayor viscoelasticidad.

REIVINDICACIONES

1. Hialuronano reticulado en polvo hinchable con un coeficiente de hinchamiento en agua del 500% o superior, y que puede obtenerse mediante mezclado de:
- 5 (a) hialuronano en polvo,
 (b) un medio líquido que contenga un alcohol monovalente conteniendo de 1 a 4 átomos de carbono y con una solubilidad del hialuronano en polvo inferior a 0,1 g/L y
 (c) un agente reticulante, para provocar una reacción de reticulado, y
 estando el hialuronano en polvo en estado de dispersión en el medio líquido durante la etapa de mezclado.
- 10 2. Hialuronano reticulado hinchable en polvo conforme a la reivindicación 1, cuya concentración de hialuronano oscila entre 0,1 y 20% en peso cuando el polvo se hincha al máximo con agua.
- 15 3. Procedimiento para producir un hialuronano reticulado en polvo hinchable, que comprende la mezcla de:
 (a) hialuronano en polvo,
 (b) un medio líquido que contenga un alcohol monovalente que tenga de 1 a 4 átomos de carbono y con una solubilidad del hialuronano en polvo inferior a 0,1 g/L y
 (c) un agente reticulante, para provocar una reacción de reticulado, y
 estando el hialuronano en polvo en estado de dispersión en el medio líquido durante la etapa de mezclado.
- 20 4. Procedimiento para producir hialuronano reticulado en polvo hinchable conforme a la reivindicación 3, siendo el medio líquido una mezcla disolvente compuesta por el alcohol monovalente y agua.
- 25 5. Procedimiento para producir hialuronano reticulado en polvo hinchable conforme a las reivindicaciones 3 o 4, donde el alcohol monovalente es etanol o 2-propanol.
- 30 6. Procedimiento para producir hialuronano reticulado en polvo hinchable conforme a cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, donde la proporción de mezcla del alcohol monovalente y el agua es de 99,9:0,1 expresada como relación de masa.
- 35 7. Procedimiento para producir hialuronano reticulado en polvo hinchable conforme a cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, donde el agua es una solución tampón alcalina o una solución tampón ácida.
8. Procedimiento para producir hialuronano reticulado en polvo hinchable conforme a cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, donde el agente reticulante es divinil sulfona, éter diglicídico de 1,4-butanodiol y/o éter diglicídico de etileno glicol
- 40 9. Procedimiento para producir hialuronano reticulado en polvo hinchable conforme a la reivindicación 3, que comprende
 (1) mezclado de
 (a) hialuronano en polvo.
 (b) un medio líquido que contenga un alcohol monovalente que tenga de 1 a 4 átomos de carbono y una solución tampón alcalina con una solubilidad del hialuronano en polvo inferior a 0,1 g/L y
 (c) un agente reticulante, para provocar una reacción de reticulado, donde el hialuronano en polvo se encuentra en
 estado de dispersión en el medio líquido durante la etapa de mezclado, y
 (2) mezclado de
 (a) un producto obtenido en la etapa (1)
 (b) un medio líquido que contenga un alcohol monovalente que tenga de 1 a 4 átomos de carbono y una solución tampón ácida con una solubilidad del hialuronano en polvo inferior a 0,1 g/L y
 (c) un agente reticulante, para provocar una reacción de reticulado,
 y donde el producto obtenido en la etapa (1) se encuentra en estado de dispersión en el medio líquido durante la etapa de mezclado.
- 50 10. Procedimiento para producir hialuronano reticulado en polvo conforme a la reivindicación 9 la proporción de alcohol monovalente respecto de la solución tampón alcalina o la solución tampón ácida es de 99,9:0,1 a 65:35 expresada como relación de masa.
- 55 11. Procedimiento para producir hialuronano reticulado en polvo conforme a las reivindicaciones 9 o 10, donde el agente reticulante es divinil sulfona, éter diglicídico de 1,4-butanodiol y/o éter diglicídico de etileno glicol.
- 60

Figura 1

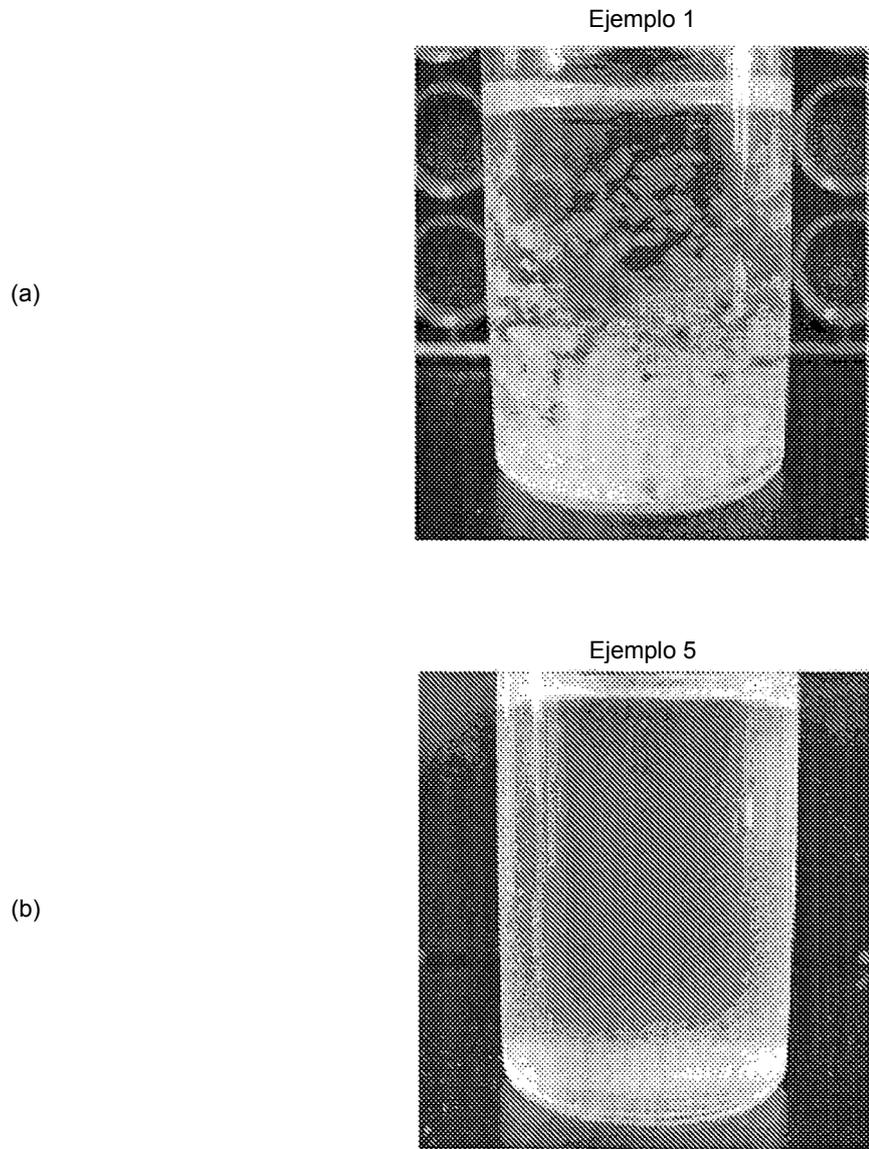


Figura 2

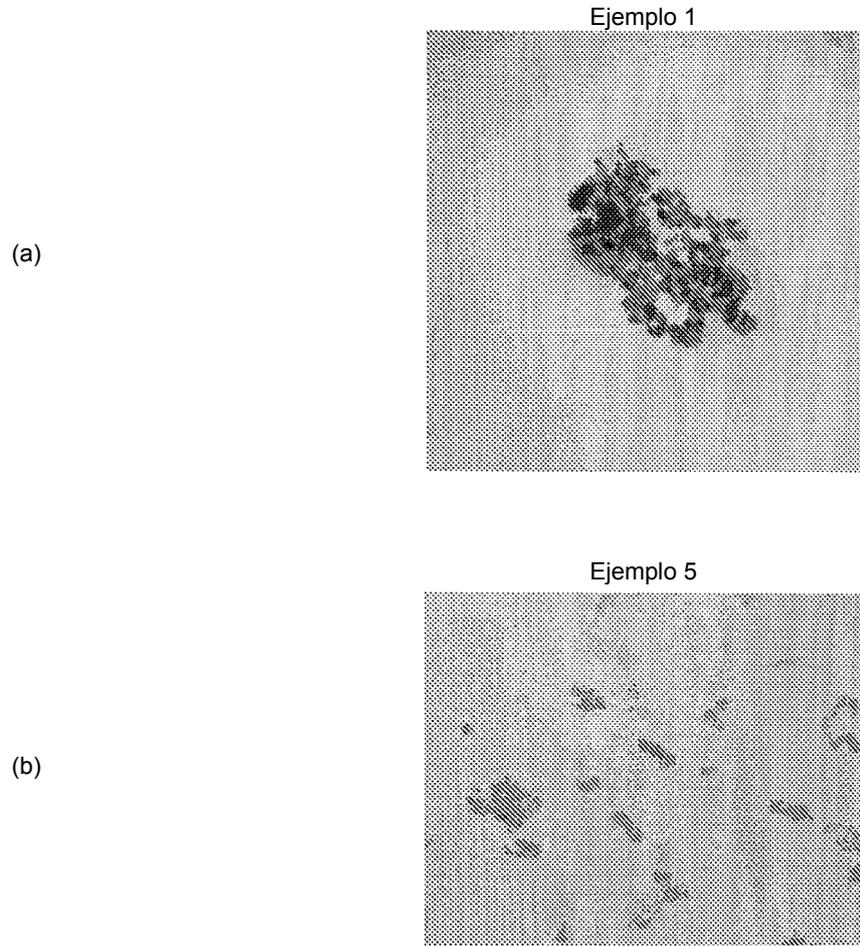
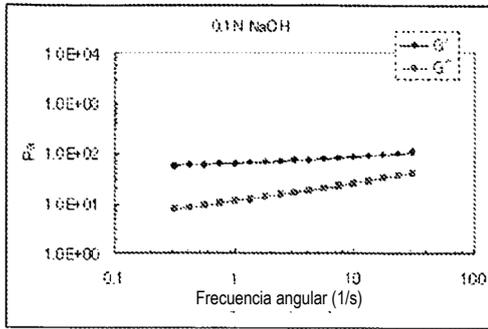
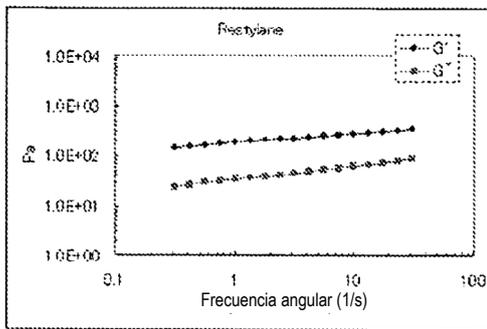


Figura 3

(a)



(b)



(c)

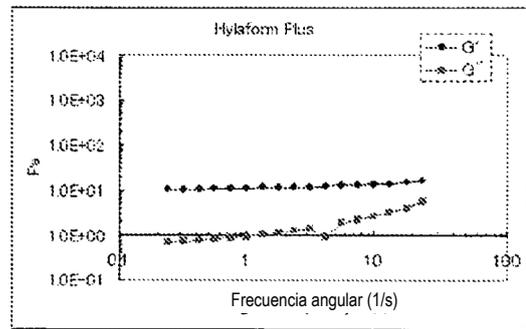
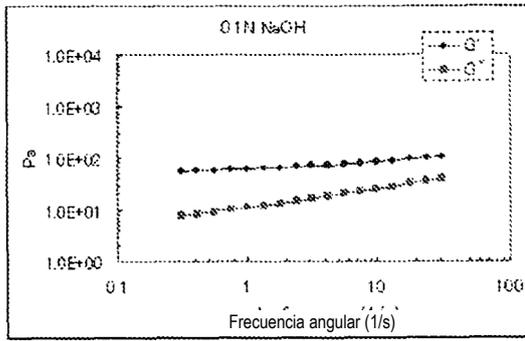


Figura 4

(a)



(b)

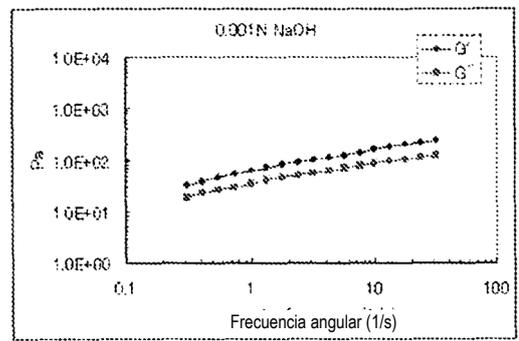
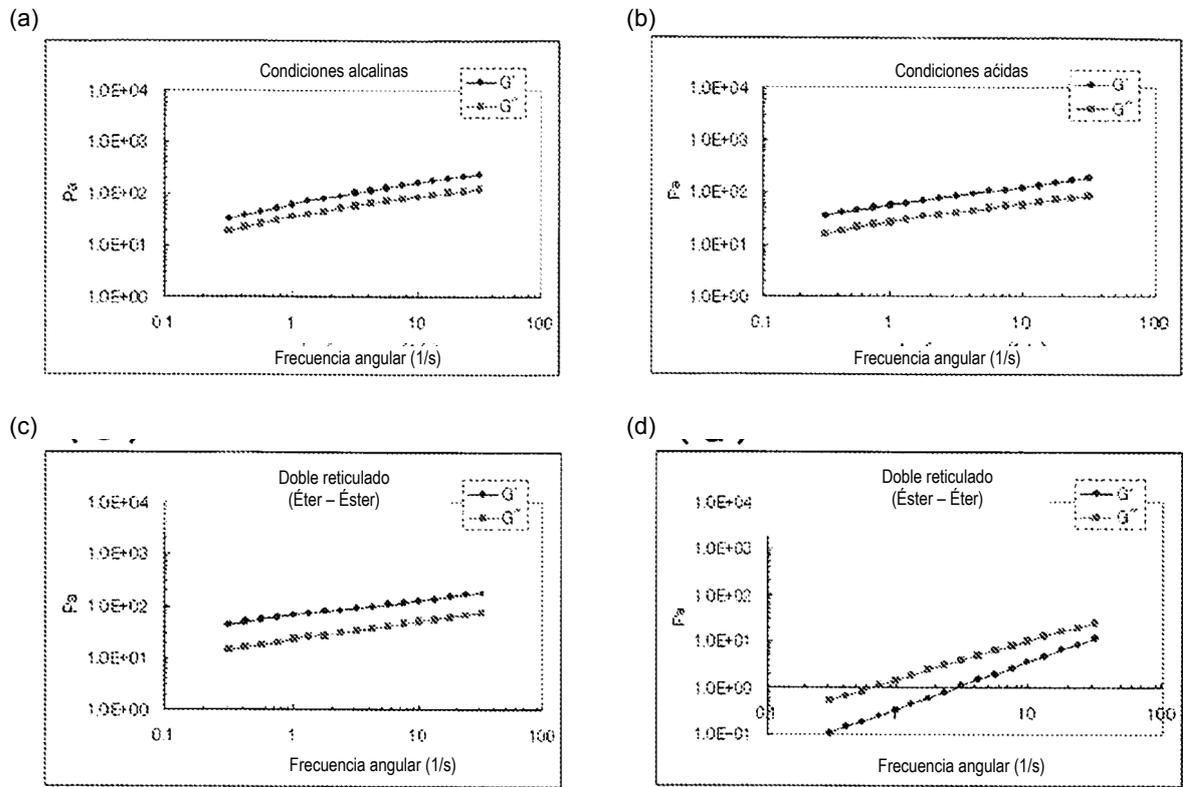


Figura 5



REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

5 La lista de referencias citada por el solicitante lo es solamente para utilidad del lector, no formando parte de los documentos de patente europeos. Aún cuando las referencias han sido cuidadosamente recopiladas, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP rechaza toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

10

• JP 3094074 B [0009]

• JP 60130641 A [0009]