

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 397 382**

51 Int. Cl.:

A61K 31/728 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

C08B 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.08.2003 E 03784399 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.10.2012 EP 1526859**

54 Título: **Proceso para preparar una formulación estéril de ácido hialurónico de alto peso molecular**

30 Prioridad:

07.08.2002 EP 02405681

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

06.03.2013

73 Titular/es:

**LABORATOIRE MEDIDOM S.A. (100.0%)
ENETRIEDERSTRASSE 44
6060 SARNEN, CH**

72 Inventor/es:

CARLINO, STEFANO

74 Agente/Representante:

RODRÍGUEZ ÁLVAREZ, Francisco José

ES 2 397 382 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

Proceso para preparar una formulación estéril de ácido hialurónico de alto peso molecular

5 La presente invención se refiere a un proceso para preparar una sal estéril del ácido hialurónico de alto peso molecular como una formulación final para uso farmacéutico.

El ácido hialurónico en forma de sal puede incluir por ejemplo hialuronato de sodio, hialuronato de potasio, hialuronato de magnesio, hialuronato de calcio u otras.

10 El ácido hialurónico es un polisacárido mucoide de origen biológico, que está ampliamente distribuido en la naturaleza. Por ejemplo, se sabe que el ácido hialurónico está presente en varios tejidos animales como cordón umbilical, líquido sinovial, humor vítreo, cresta de gallo y varios tejidos conjuntivos tales como piel y cartílago.

15 Químicamente, el ácido hialurónico es un miembro de los glicosaminoglicanos y está constituido por unidades alternantes y repetitivas de ácido D-glucurónico y N-acetil-D-glucosamina, para formar una cadena lineal con un peso molecular hasta 13×10^6 Daltons.

20 En el sentido de la presente invención, el ácido hialurónico de alto peso molecular es el ácido hialurónico que tiene un peso molecular promedio de no menos de $0,5 \times 10^6$ Daltons.

El uso farmacéutico del ácido hialurónico o de una sal derivada del mismo está ampliamente descrito en la literatura.

25 Debido a que el ácido hialurónico es una sustancia no inmunogénica y tiene propiedades viscoelásticas e hidrofílicas, se utiliza, desde hace varios años, como un sustitutivo del humor vítreo del ojo o líquido de las articulaciones o como un medio de apoyo en cirugía oftálmica, como por ejemplo se divulga en US A-4,141,973 de Balazs.

30 En los líquidos de las articulaciones, la solución viscosa de ácido hialurónico sirve como lubricante para proporcionar una protección ambiental para las células y por esta razón, se utiliza en el tratamiento de las articulaciones de la rodilla inflamada.

35 La patente EP-A-0 781 547 divulga un hialuronato de sodio según formulación oftálmica para uso en la cirugía ocular.

La patente EP-A-0 719 559 divulga soluciones viscosas de hialuronato de sodio para su utilización como fluido máscara en foto-queratectomía terapéutica mediante láser excimer.

40 La patente EP-A-0 875 248 divulga el uso de ácido hialurónico o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables para la preparación de una solución acuosa útil como líquido de lavado intra-articular.

La patente EP-A-0 698 388 de Chemedica S.A. divulga una preparación oftálmica para el uso como lágrimas artificiales con hialuronato como un espesante de la viscosidad.

45 El uso farmacéutico de ácido hialurónico o de una sal derivada del mismo requiere un producto altamente puro y estéril.

50 El ácido hialurónico puede extraerse y purificarse de fuentes animales o microbianas como cordones umbilicales, crestas de gallo o de Estreptococos del grupo A y C, tal como se divulga, por ejemplo, en las patentes US-A-4,141,973 de Balazs, US-A-5,559,104 de Romeo y al. y WO 00/4925.

55 El proceso industrial de extracción y purificación de ácido hialurónico produce normalmente sales de ácido hialurónico, como hialuronato de sodio, en forma de polvo seco. El polvo seco purificado de calidad farmacéutica puede utilizarse para preparar, por ejemplo, formulaciones farmacéuticas acuosas para diversos usos farmacéuticos tales como inyección interarticular, colirios o sustitución de humor vítreo.

60 Un proceso industrial común para la preparación de formulaciones farmacéuticas listas-para-el-uso comprende la mezcla de una cantidad definida en peso de hialuronato de sodio con un volumen exacto de agua y sal y dependiendo del caso, como el cloruro de sodio y tampones tales como fosfatos y otros excipientes. Como la concentración y la composición de la formulación para uso farmacéutico deben mantenerse dentro de un rango definido por un estrecho margen, los diferentes componentes de la formulación se miden cuidadosamente. La formulación, a continuación, se introduce en recipientes como jeringas y viales de dosis definidas listos-para-usar. Tras el llenado de los recipientes, la formulación es esterilizada por autoclave típicamente alrededor de $121 \text{ }^\circ\text{C}$ durante quince minutos o más.

65 Uno de los problemas con el uso de calor para esterilizar el ácido hialurónico es el efecto conocido en romper las

cadena molecular que forman el Acido Hialurónico, reduciendo el peso molecular medio de Acido Hialurónico.

El alto peso molecular del ácido hialurónico es una importante propiedad farmacológica.

5 En muchas aplicaciones farmacéuticas no es conveniente que exista Acido Hialurónico de bajo peso molecular en la formulación, por ejemplo, teniendo en cuenta los efectos inflamatorios del Acido Hialurónico de bajo peso molecular como se divulga en US 4.141.973 y la pérdida de propiedades beneficiosas reológicas de Acido Hialurónico de alto peso molecular. Para compensar la degradación del Acido Hialurónico en una formulación de determinada concentración en los métodos de esterilización mencionados, el ácido hialurónico o sus sales derivadas, inicialmente
10 utilizado en la preparación de la formulación tiene un peso molecular medio que es mayor que el deseado mínimo peso molecular promedio de la formulación final. Esto es, sin embargo, antieconómico debido a que el rendimiento de la producción de ácido hialurónico desde la materia prima disminuye tanto como el peso molecular medio requerido aumenta.

15 Otro método conocido de esterilización del ácido hialurónico es por filtración. Esta técnica se utiliza en procesos industriales convencionales para preparar sales purificadas del ácido hialurónico en forma concentrada, generalmente en forma de polvo seco, mediante el cual una solución acuosa de baja concentración es pasada por el filtro y posteriormente secada.

20 Tales medidas de esterilización, se describen en la solicitud de patente europea EP 867453 y aplicación PCT WO 00/44925. En estas solicitudes también se divulga, un filtro para la esterilización con un tamaño de poro tan pequeño como 0,22 µm. Filtros con un tamaño de poro de 0,22 µm tienen un reto bacteriano de 1 entre 10⁷ bacterias, basado en la conocida y más pequeña bacteria *Pseudomonas diminuta*, mientras que filtros con un tamaño de poro de 0,45 µm tienen un reto bacteriano de 1 entre 10⁴ bacterias (siempre basadas en *Pseudomonas diminuta*). Por esta razón,
25 filtros de poro de un tamaño menor de 0,45 µm se consideran ser de esterilización.

En la WO 93/20858 Acido Hialurónico y descritas soluciones como adhesivos para sustituciones de hueso granular compuestas por ácido hialurónico, esteres de ácido hialurónico o sales antibióticas de ácido hialurónico en combinación con gránulos de hueso. Esta solicitud de patente describe la preparación de soluciones de alta viscosidad de ácido hialurónico de bajo peso molecular, esteres de ácido hialurónico o sal de ácido hialurónico en asociación con antibióticos, previamente esterilizado con rayos gamma, en agua estéril o tampón. La WO 93/20858 describe también un filtro con un tamaño de poro de 0,22 µm para la esterilización de una solución de ácido hialurónico de bajo peso molecular.

35 En procesos industriales convencionales, no se conoce la utilización del método de esterilización por filtración para la preparación de formulaciones farmacéuticas de alta viscosidad listas para su uso, ya que en la concentración requerida de Acido Hialurónico en formulaciones acuosas farmacéuticas de alta viscosidad, típicamente en el rango de 1 a 2% peso/volumen, no todo el ácido hialurónico pasa por el filtro de 0,22 µm. Debido a que esto da como resultado un cambio en la concentración y/o una pérdida de ácido hialurónico, la esterilización por filtración para la preparación de formulaciones farmacéuticas de alta viscosidad lista-para-el-uso es problemática.

40 En la US 5.093.487, se describe la preparación de una formulación farmacéutica acuosa que incluye hialuronato de sodio de alto peso molecular esterilizado y listo para su uso a través de un filtro de 0,22 µm. Sin embargo, el método de esterilización descrito en esta patente se basa en un número de pasadas de la formulación acuosa de ácido hialurónico a través del filtro de 0,22 µm, con el fin de reducir irreversiblemente la viscosidad del ácido hialurónico. La esterilización de una formulación farmacéutica acuosa que incluya Acido Hialurónico en una concentración de 1% o más es, según esta publicación, posible teniendo en cuenta la reducción de la viscosidad del ácido hialurónico resultante de múltiples pasadas a través del filtro. Además, en esta aplicación se argumentó que la viscosidad se reduce sin reducir el peso molecular de Acido Hialurónico. Sin querer tomar posición sobre la validez de las conclusiones del informe de la publicación mencionada, para muchas aplicaciones farmacéuticas como las aplicaciones intra-articulares, la reducción de la viscosidad de Acido Hialurónico es indeseable.

45 Un objetivo de la invención presente es obtener una formulación farmacéutica acuosa estéril lista-para-el uso que incluya una sal de ácido hialurónico, que sea estéril y económica de producir, especialmente en condiciones industriales. Es ventajoso proporcionar tal formulación con una tolerancia estrecha de la concentración de los ingredientes de la formulación.

50 Los objetivos de esta invención se han logrado mediante un proceso para preparar una formulación estéril de Acido Hialurónico de alto peso molecular para uso farmacéutico según la Reivindicación 1.

60 Lo aquí divulgado es un proceso para preparar una formulación farmacéutica acuosa estéril de lista para su uso incluyendo una sal de ácido hialurónico de alto peso molecular (Acido Hialurónico) a una concentración final especificada, que comprende los etapas de:

65 - proporcionar una formulación acuosa incluyendo Acido Hialurónico de alto peso molecular a una concentración menor que la concentración final especificada;

- pasar dicha formulación acuosa a través de un filtro de tamaño de poro inferior a 0,45 µm;

5 - concentrar dicha formulación acuosa aplicando agua en ebullición al vacío hasta que se alcanza dicha concentración final especificada.

10 Ventajosamente, la concentración reducida de la formulación acuosa antes del filtrado, como una función del peso molecular, reduce la viscosidad y permite que todo el Acido Hialurónico pase a través del filtro y sea esterilizado, la posterior ebullición en vacío asegura que esencialmente no se produce degradación, por dependencia del calor, del Acido Hialurónico. El proceso se adapta bien a ambientes industriales y es especialmente económico, permitiendo que dosis de formulación farmacéutica lista-para-el-uso que incluya Acido Hialurónico puedan llenarse en recipientes estériles sin posterior esterilización.

15 Otra ventaja es que la formulación es microbiológicamente estable y puede mantenerse durante semanas antes de ser utilizada como preparación farmacéutica.

20 La viscosidad del Acido Hialurónico en solución acuosa es una propiedad que depende de varios parámetros como peso molecular, concentración, temperatura, concentración y calidad de sales, pH y coeficiente de corte aplicado a la solución. Un mayor peso molecular y la concentración aumentan la viscosidad, mientras que las sales y un mayor coeficiente de corte disminuyen la viscosidad. Con respecto a la temperatura, el Acido Hialurónico tiene un comportamiento histerético según informó M. Cardones et al. "Comportamiento de histéresis de soluciones de hialuronato de sodio durante el calentamiento y enfriamiento", Clear Solutions Biotech, Inc., Informe Técnico 01. La viscosidad aumenta y disminuye de forma irregular, aumentando o disminuyendo la temperatura. Entre 60 °C y 70 °C es posible obtener la viscosidad mínima de la solución. Por lo tanto, esta propiedad histerética se puede utilizar para disminuir o aumentar la viscosidad de la solución, pero debe considerarse que la degradación de las cadenas de Acido Hialurónico es proporcional a la temperatura y la duración en la que se mantiene esta temperatura.

30 Durante la etapa de concentración después de la filtración, la concentración de Acido Hialurónico puede ser controlada en tiempo real con el fin de detener la ebullición en vacío cuando se alcanza la concentración especificada para la formulación farmacéutica listo para su uso. El proceso de seguimiento o medición puede ser realizado ventajosamente con un espectrofotómetro con el haz sensor colocado en la formulación, la absorción de la radiación en el rango ultravioleta (UV) es proporcional a la concentración de Acido Hialurónico. Una característica especialmente ventajosa de esta invención es que obvia la necesidad de mezclar las cantidades exactas de agua y ácido hialurónico para obtener la concentración adecuada y garantiza que dicha concentración se mantiene a través del proceso. En cambio, la mezcla inicial de Acido Hialurónico y agua tiene una concentración aproximada inferior a la formulación final, lo que simplifica el proceso.

40 El vacío aplicado durante el proceso de concentración es preferiblemente menor de 200 milibares de presión absoluta, en particular en el rango de 30 a 60 milibares, por ejemplo 40 milibares, mediante el cual la temperatura de ebullición es de alrededor de 26 a 28 °C. Los equipos industriales funcionan económica y confiablemente a tales presiones y la baja temperatura evita cualquier reducción significativa o medible del peso molecular de ácido hialurónico.

45 El tamaño de poro del filtro es ventajosamente alrededor de 0,22 µm o menos, lo que garantiza la preparación de una formulación muy estéril. La formulación farmacéutica de alta viscosidad, esterilizada mediante filtro, con concentración de Acido Hialurónico en el rango de 1 a 3% puede, por lo tanto, ser preparada, ventajosamente, de manera estéril y económica, según esta invención.

50 Más aspectos ventajosos de esta invención aparecerán claros en las Reivindicaciones y la siguiente descripción detallada de un ejemplo de un proceso y dibujo anejo en el cual:

- La fig. 1 representa un diagrama de flujo que ilustra los etapas en una Realización del proceso según la invención;
- 55 • Las figuras 2 y 3 son gráficos que representan el porcentaje de Acido Hialurónico de peso molecular de 1,1 millones y 2,2 millones de Daltons, respectivamente, pasando a través de un filtro de 0,22 µm en función del porcentaje de concentración de peso/volumen en una solución acuosa, a 20 °C y pH neutro;
- 60 • La fig. 4 es un gráfico que representa la densidad óptica (OD) a 230 nm de la formulación en función del tiempo durante el proceso de concentración, medida por un espectrofotómetro.

65 Refiriéndose a la figura 1, se muestra un proceso para preparar una formulación farmacéutica acuosa lista-para-el-uso que incluye una sal de ácido hialurónico de alto peso molecular en una concentración farmacéutica especificada. Antes de preparar la formulación, el equipo de la planta de proceso es limpiado con agua purificada (etapa 1), esterilizado con vapor limpio (etapa 2) y lavado con agua destilada estéril para inyección (WFI) (etapa 3).

Una preparación de una formulación acuosa de Acido Hialurónico, por ejemplo, una solución diluida de hialuronato de sodio en una concentración inferior a la especificada para la formulación farmacéutica final se introduce en un reactor de mezclado para preparar la formulación pre-filtrada (etapa 4).

- 5 La solución acuosa de Acido Hialurónico puede ser igualmente preparada desde una sal secada de Acido Hialurónico o bien de la solución preparada de acuerdo con la solicitud PCT WO 00/44925, antes del proceso de secado.

10 La adición de una solución concentrada de sal (25x), dosificada por una bomba peristáltica, se lleva a cabo con el fin de agregar la cantidad correcta de sales junto con la cantidad de Acido Hialurónico añadido (etapa 5). La solución de sal normalmente contiene NaCl, tampones y otros excipientes especificados para la formulación farmacéutica final y se agregan para llevar el pH a un pH fisiológico, como 7,4 y dar a la formulación final la osmolaridad fisiológica, tal como 300 mOsm/litro.

15 La solución de sal, tampones y otros excipientes también se puede añadir asépticamente después de la etapa de filtración 7 directamente en la cámara de reacción. Esto es particularmente ventajoso para Acido Hialurónico de muy alto peso molecular, habida cuenta del hecho que las sales disminuyen la capacidad de filtrado del Acido Hialurónico y por lo tanto, requeriría una mayor dilución de la solución pre- filtrada. La cantidad de excipientes añadidos puede ser controlada en tiempo real por un sensor de conductividad eléctrica (sonda) en la cámara de reacción. La conductividad de la formulación del Acido Hialurónico está relacionada con la cantidad de excipiente en la formulación y puede determinarse empíricamente. Así, midiendo la conductividad de la formulación de Acido Hialurónico según se añade excipiente en la cámara de reacción, hasta que se alcanza la concentración requerida, puede agregarse la cantidad necesaria de excipiente en la formulación de una manera simple, fiable y precisa. Lo antes mencionado, en particular evita la necesidad de calcular y medir las dosis de antemano y en particular elimina el problema de tener que tomar en cuenta y compensar por la cantidad cierta de Acido Hialurónico, aunque fuera pequeña, retenida por el filtro durante la etapa de filtración 7.

20 A modo de ejemplo, la formulación puede ser preparada con 45 gramos de hialuronato de sodio seco de un peso molecular promedio de 2,2 millones Daltons mezclado con 15 litros de agua destilada estéril para inyección, WFI. En este caso, debido al alto peso molecular del Acido Hialurónico, las sales y el tampón se agregan después de la filtración para evitar una mayor dilución de la solución pre-filtrada que la requerida, como se mencionó anteriormente.

35 Un agitador en el reactor mezcla la solución pre-filtrada (etapa 6), por ejemplo, durante unos 120 minutos, hasta que quede homogénea. En este ejemplo en particular, la solución pre-filtrada tiene una concentración de Acido Hialurónico de 0,3% peso/volumen. A esta concentración, el ácido hialurónico con un peso molecular de 2,2 millones de Daltons, a temperatura ambiente y pH fisiológico, tiene una baja viscosidad que le permite pasar completamente a través de un filtro con tamaño de poro de 0,22 μm . La viscosidad máxima a la que toda la formulación de Acido Hialurónico pasa a través de un filtro de un tamaño de poro de 0,22 μm , se encuentra a aproximadamente a 5 Pa's (pascal segundo) medido con coeficiente de corte de 0,1 s^{-1} a 20 ° C. Sin embargo esta máxima viscosidad dependerá del tamaño de poro del filtro: Un menor tamaño de poro, tal como 0,1 μm , reduciría esta máxima viscosidad a la cual todo el Acido Hialurónico pasaría a través del filtro.

45 Como se mencionó anteriormente, la concentración máxima de Acido Hialurónico en una solución acuosa en la que todo el Acido Hialurónico pasara a través de un filtro esterilizador, por ejemplo, un filtro de 0,22 μm , dependerá del peso molecular del ácido hialurónico. Esto puede comprobarse en las gráficas mostradas en las figuras 2 y 3, donde en la figura 2 se muestra el porcentaje de hialuronato de sodio de peso molecular medio de aproximadamente 1,1 millones Daltons que pasa por un filtro con tamaño de poro de 0,22 μm a temperatura sustancialmente ambiente (alrededor de 20 ° C) y con sustancialmente pH neutro (alrededor de 7) como una función de la concentración (gramos de hialuronato de sodio por decilitro de agua = % peso/volumen).

50 La fig. 3 muestra un gráfico similar en las mismas condiciones, excepto que el hialuronato de sodio tiene un peso molecular medio de aproximadamente 2,2 millones de Daltons. Puede verse en el gráfico de la figura 2 que todo el hialuronato de sodio de un peso molecular de 1,1 millones de Daltons pasa por el filtro hasta una concentración de aproximadamente 0,92% peso/volumen (o g/dl), mientras que para el hialuronato de sodio con un peso molecular de 2,2 millones de Daltons, la máxima concentración es aproximadamente 0,32% peso/volumen. Por consiguiente, como el peso molecular de la sal del ácido hialurónico aumenta de 1,1 a 2,2 millones de Daltons, disminuirá la concentración máxima de Acido Hialurónico en una solución acuosa al pasar el 100% a través del filtro de 0,22 μm desde un 0,94% peso/volumen a alrededor de 0,32% peso/volumen.

60 En un proceso industrial y considerando que, después de la filtración, la solución está concentrada, es preferible tener una concentración algo menor que el límite superior para asegurar que el proceso de filtrado está completado y es confiable con un cierto margen para el error o variaciones de lote a lote, en el peso molecular del hialuronato de sodio, la temperatura y las concentraciones de la mezclas.

65 La solución puede ser obligada a pasar a través del filtro de esterilización (etapa 7) mediante la introducción de un gas a presión, tal como nitrógeno, por ejemplo, con presión de alrededor de 3 bares en el reactor de mezclado o

mediante una bomba. El filtro esterilizador tiene preferiblemente un tamaño de poro de 0,22 μm , pero los filtros con otros tamaños de poro menores de 0,45 μm y mayores de aproximadamente 0,1 μm , también pueden utilizarse en la medida que estos filtros están o estarán comercialmente disponibles.

- 5 Cuando toda la solución de Acido Hialurónico ha pasado por el filtro hacia un destilador, el destilador es cerrado desde el filtro y reactor de mezcla con una válvula y una bomba de vacío se activa y regula la presión en el destilador mediante una válvula de regulación (etapas 8, 9, 10). La presión es menos de 200 milibares con el fin de que la temperatura de ebullición esté por debajo de 60 °C, pero preferiblemente la presión esté en el rango de 30 a 60 milibares, por ejemplo en 40 milibares, cuando la temperatura de ebullición del agua está en el rango de 26 a 28 °C, cerca de la temperatura ambiente.

En lugar del destilador, un evaporador de película fina o cualquier otro de concentrador bajo vacío puede ser útil para un lote, lote alimentado o concentración continua de la formulación de Acido Hialurónico.

- 15 Una camisa de calentamiento alrededor del destilador suministra energía térmica durante el proceso de ebullición. Ventajosamente, la temperatura de ebullición inferior a 30 °C asegura que esencialmente no existe degradación del ácido hialurónico por lo que no se reduce el peso molecular del ácido hialurónico.

- 20 Un sensor de concentración del Acido Hialurónico, ventajosamente, en forma de un espectrofotómetro con una fibra óptica sumergida en la formulación, puede ser proporcionado para medir en tiempo real la concentración de ácido hialurónico (etapa 11) y automáticamente detiene el proceso de ebullición cuando se alcanza la concentración adecuada. Por ejemplo, el espectrofotómetro puede basarse en la absorción de un haz de luz ultravioleta (por ejemplo, con longitud de onda 230 nm) colocada dentro de la solución en el destilador. La figura 4 muestra la densidad óptica a 230 nm medida en el tiempo durante el proceso completo de concentración (por ejemplo hasta 2% peso/volumen). La medición de tiempo real de la concentración de Acido Hialurónico evita la necesidad de mezclar cantidades muy precisas durante la preparación de la solución diluida pre-filtrada, simplificando el proceso.

- 30 La ebullición en vacío tiene también un importante ventaja de desgasificación de la formulación que, teniendo en cuenta el proceso de mezcla y aplicación de nitrógeno a alta presión durante el proceso de filtrado, incluye burbujas, microburbujas y gas disuelto que no son aceptables en la formulación farmacéutica final.

- 35 Cuando el sensor de concentración de Acido Hialurónico en el destilador señala que se alcanza la concentración especificada, la presión en el destilador es rápidamente aumentada mediante la introducción de gas en él, por ejemplo nitrógeno, (etapa 13) y la camisa de calentamiento alrededor del destilador se enfría a temperatura ambiente o menos, logrando así detener inmediatamente el proceso de concentración de la formulación (etapa 12).

Cabe señalar que con un proceso según esta invención, la concentración de ácido hialurónico en la formulación puede estar en el rango de hasta un 3%, según el uso farmacéutico especificado.

- 40 La formulación entonces puede ser bombeada o empujada mediante un gas (por ejemplo, nitrógeno) bajo presión en depósitos estériles (etapas 28, 30) para el llenado en otro lugar y/o en una fase posterior directamente en recipientes estériles, como jeringas (etapa 16), listos-para-usar. La formulación farmacéutica también puede ser llenada directamente en recipientes estériles para uso farmacéutico sin almacenamiento intermedio en un depósito estéril.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un proceso para preparar una formulación farmacéutica estéril acuosa lista-para-el- uso compuesta por una sal de ácido hialurónico de alto peso molecular (Acido Hialurónico) (HA) de no menos de $0,5 \cdot 10^6$ Daltons con una concentración especificada, que comprende las etapas de:
- proporcionar una formulación acuosa compuesta por Acido Hialurónico de alto peso molecular a una concentración inferior a la concentración especificada;
 - 10 - pasar dicha formulación acuosa a través de un filtro de un tamaño de poro menor de $0,45 \mu\text{m}$ y mayor de $0,1 \mu\text{m}$;
 - concentrar dicha formulación acuosa mediante la aplicación de vacío a una presión absoluta inferior a 200 milibares y ebullición del agua mientras se mide la concentración de Acido Hialurónico en tiempo real;
 - 15 - detener el proceso de ebullición en vacío cuando se alcanza dicha concentración especifica de Acido Hialurónico.
- 20 2. Proceso según la Reivindicación 1, en donde, después del etapa de la concentración, la formulación farmacéutica es llenada en recipientes estériles listos-para-su-uso o en depósitos estériles y posteriormente llenada en recipientes estériles listos-para-su-uso.
- 25 3. Proceso según cualquiera de las Reivindicaciones anteriores, en donde el peso molecular medio de Acido Hialurónico está en el rango de $800'000'$ a $5'000'000$ Daltons.
4. Proceso según cualquiera de las Reivindicaciones anteriores, en donde el filtro tiene un tamaño de poro de $0,22 \mu\text{m}$ o menos.
- 30 5. Proceso según cualquiera de las Reivindicaciones anteriores, en donde la concentración de Acido Hialurónico se mide con un espectrofotómetro de detección de absorción de la radiación de onda en la formulación.
- 35 6. Proceso según cualquiera de las Reivindicaciones anteriores, donde los excipientes se agregan a la formulación después de la etapa de filtración y en donde se mide la conductividad de la formulación de Acido Hialurónico en tiempo real hasta que la cantidad de excipientes alcanza el valor requerido.

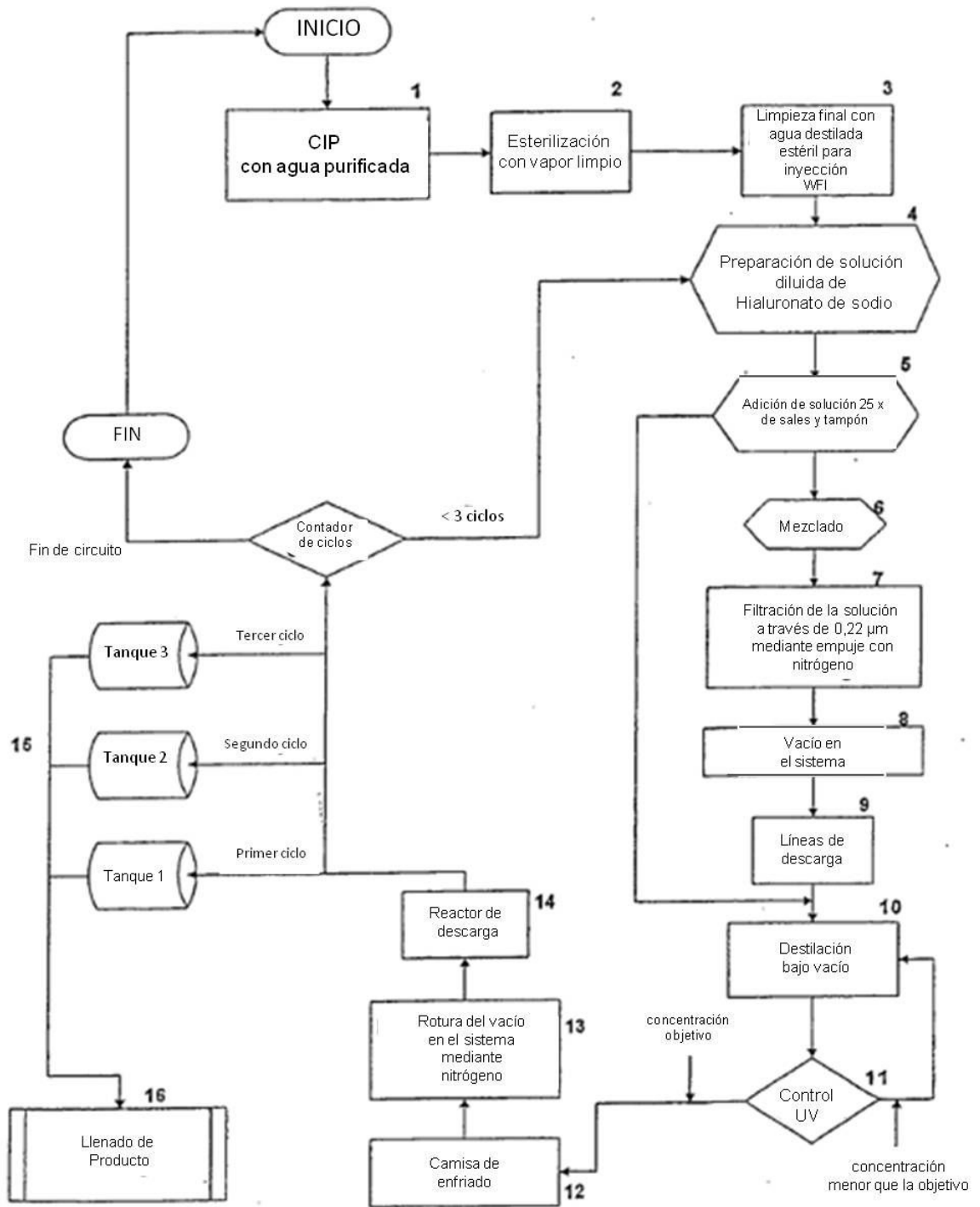


Fig. 1

Porcentaje de hialuronato de sodio filtrable en función de la concentración (PM 1,1 millones Dalton)

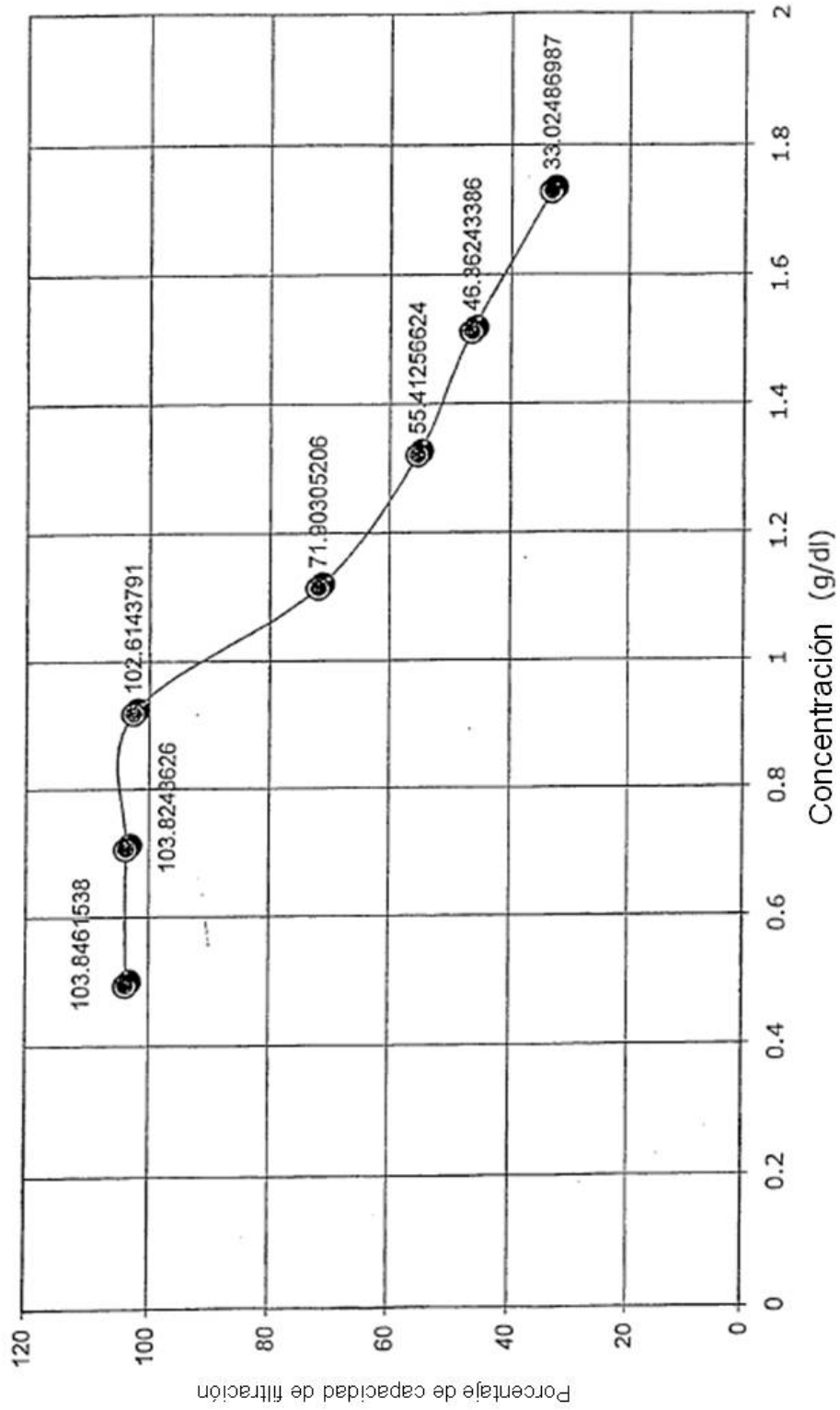


Fig. 2

Porcentaje de hialuronato de sodio filtrable en función de la concentración (PM 2,2 millones Dalton)

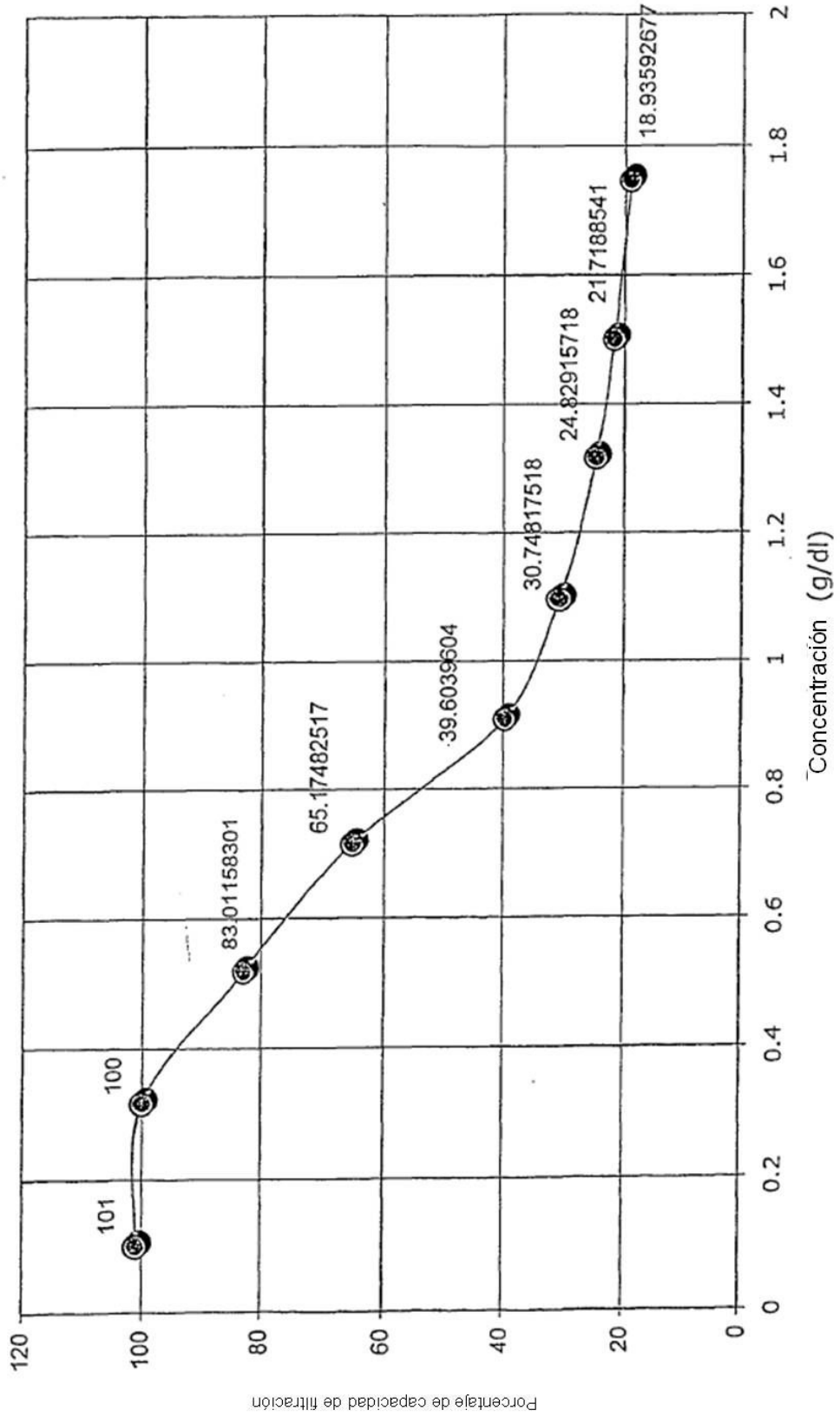


Fig. 3

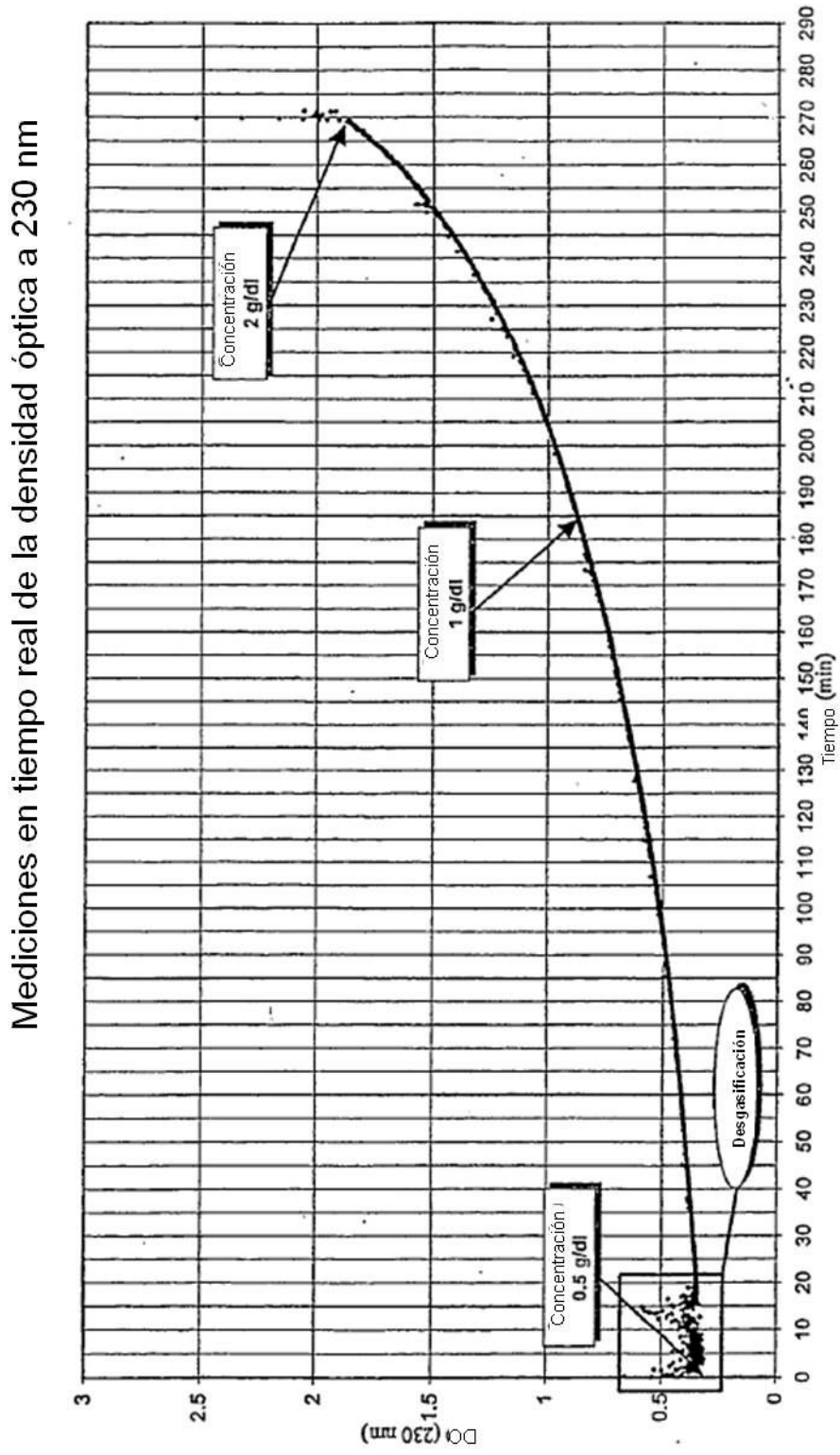


Fig. 4