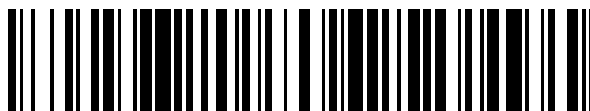


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 564**

51 Int. Cl.:

A61L 27/50 (2006.01)

A61L 27/20 (2006.01)

C08B 37/08 (2006.01)

C08J 3/24 (2006.01)

A61L 27/52 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.04.2004** **E 10181594 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.03.2015** **EP 2289945**

54 Título: **La reticulación de hialuronatos de sodio con peso molecular bajo y alto, la fabricación de hidrogeles inyectables de una fase y el hialuronato de sodio e hidrogel reticulados por tanto obtenidos**

30 Prioridad:

10.04.2003 FR 0304444

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

26.05.2015

73 Titular/es:

**ALLERGAN INDUSTRIE (100.0%)
ZA de Pré-Mairy Route de Proméry
74370 Pringy, FR**

72 Inventor/es:

LEBRETON, PIERRE

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 536 564 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

La reticulación de hialuronatos de sodio con peso molecular bajo y alto, la fabricación de hidrogeles inyectables de una fase y el hialuronato de sodio e hidrogel reticulados por tanto obtenidos

La presente invención se refiere a:

- 5 - un procedimiento para la reticulación de hialuronato de sodio (NaHA),
- un procedimiento para la preparación de un hidrogel monofásico inyectable de tal polímero; y
- los polímeros reticulados e hidrogeles monofásicos inyectables respectivamente obtenibles por cada uno de dichos procedimientos.

10 Los hidrogeles en cuestión, basados en dichos polímeros reticulados de NaHA, tienen numerosas salidas, especialmente como materiales de carga en cirugía plástica, cosmética y dental, en oftalmología y en ortopedia, como productos para prevenir la adhesión de tejidos, en cirugía general, en urología. Dichos hidrogeles son particularmente apropiados para reparar las cuerdas vocales. Las salidas indicadas anteriormente para productos de este tipo, sin implicar ninguna limitación, son familiares para los expertos en la técnica.

15 La invención es el resultado de un genuino esfuerzo para optimizar la operación de reticulación de los polímeros en cuestión en vista a obtener hidrogeles monofásicos inyectables que son de particular valor con respecto al siguiente compromiso: por una parte propiedades mecánicas y remanencia, y por otra parte inyectabilidad a mano (con aceptables fuerzas de inyección y diámetros de aguja de inyección).

20 Se señala aquí que el término "inyectable", empleado en el presente texto, con referencia tanto a los hidrogeles de la técnica anterior como a los hidrogeles de la invención, significa inyectabilidad manual por medio de jeringas equipadas con agujas convencionales (que tienen un diámetro de entre 0,1 y 0,5 mm). Dentro del marco de la presente invención, es posible en particular formular hidrogeles que se pueden inyectar por medio de agujas hipodérmicas de 30 G½, 27 G½, 26 G½ y 25 G.

Según la técnica anterior, ya se han preparado hidrogeles, especialmente hidrogeles inyectables, de polisacáridos y sus derivados – especialmente sales de ácido hialurónico – que no tienen, un bajo o un alto grado de reticulación.

25 Con referencia al problema específico de inyectabilidad, se han propuesto composiciones bifásicas cuya fase continua, en particular, está basada en tales hidrogeles. Dicha fase continua sirve como plastificante, vehículo de inyección para una fase dispersa. Esta fase dispersa es más o menos sólida, más o menos diferenciada de la fase continua.

De este modo:

30 - las composiciones bifásicas descritas en la solicitud de patente EP-A 0 466 300 consisten en dos fases bioabsorbibles – continua y dispersa – y están en la forma de suspensiones. Dichas dos fases se preparan ventajosamente de fibras de Hylan (ácido hialurónico natural químicamente modificado in situ para facilitar su extracción de los tejidos);

35 - las composiciones bifásicas descritas en la solicitud de patente WO-A-96 337 51 también tienen dos fases bioabsorbibles con una mejor separación, consistiendo la fase dispersa en fragmentos insolubles de un hidrogel de polímero altamente reticulado (seleccionado de ácido hialurónico y sus sales);

40 - las composiciones bifásicas descritas en la solicitud de patente WO-A-00 014 28 contienen una fase dispersa no bioabsorbible (partículas de por lo menos un hidrogel de un (co)polímero obtenido por polimerización y reticulación de ácido acrílico y/o ácido metacrílico y/o por lo menos un derivado de dichos ácidos) suspendida en una disolución acuosa de un polímero reticulado o no reticulado seleccionado de proteínas, polisacáridos y sus derivados.

Estos sistemas bifásicos no son totalmente satisfactorios en tanto que están asociados a temores justificables de flujo irregular durante la inyección y particularmente después de la inyección, una más rápida desaparición de la fase continua (que tiene cero o bajo grado de reticulación) y por consiguiente una por lo menos pérdida parcial del efecto deseado, especialmente el efecto de carga.

45 Los hidrogeles monofásicos, desarrollados de los mismos tipos de polímeros, se propusieron por lo tanto también en paralelo.

50 En las solicitudes de patente WO-A-98 356 39 y WO-A-98 356 40, el producto en cuestión no es un hidrogel inyectable sino un producto de consistencia sólida. Dichas solicitudes de patente de hecho describen implantes oculares usados para llenar temporalmente un hueco creado quirúrgicamente. El hidrogel desarrollado en la patente US-A-4 716 154 se propone como sustituto para el cuerpo vítreo. El polímero en cuestión (hialuronato de sodio) tiene un muy bajo grado de reticulación para obtener un hidrogel inyectable. El hidrogel monofásico descrito en la solicitud de patente WO-A-02 057 53 está cargado con un antiséptico que es efectivo para protegerlo de radicales

libres después del implante. La solicitud de patente WO-A-02 063 50 describe un procedimiento capaz de generar este tipo de hidrogel que es muy homogéneo todo él.

Todos estos hidrogeles monofásicos se obtuvieron de polímeros de alto peso molecular reticulados usando una cantidad efectiva y no excesiva de por lo menos un agente de reticulación, en un disolvente acuoso.

- 5 A la vista de esta técnica anterior, los inventores deseaban mejorar la eficacia de reticulación del polímero en cuestión, especialmente para mejorar la resistencia a la degradación (remanencia) del hidrogel implantado conservando al mismo tiempo la posibilidad de inyección de dicho hidrogel en condiciones aceptables.

10 Para mejorar la eficacia de reticulación, los inventores inicialmente consideraron usar más agente de reticulación. Este enfoque se descartó rápidamente en base a que ineludiblemente provoca desnaturalización del polímero en cuestión y contaminación química del producto reticulado obtenido.

15 Dichos inventores consideraron a continuación incrementar la concentración de polímero en la mezcla de reacción. De la misma manera, este segundo enfoque tuvo que ser descartado, a priori, debido a los polímeros usados convencionalmente hasta la fecha, a saber, polímeros de alto peso molecular. De este modo el hialuronato de sodio se usa siempre con altos pesos moleculares ($M_w \geq 10^6$ Da, $\approx 2 \cdot 10^6$ Da, $3 \cdot 10^6$ Da) a concentraciones cercanas a la concentración máxima, que es de alrededor de 105-110 mg/g. Usarlo a una concentración mayor es difícil (la viscosidad de la mezcla de reacción se vuelve demasiado alta) e inevitablemente provoca problemas de solubilidad, pobre homogeneidad.

20 Por otra parte, se encuentra que es posible concentrar el medio de reacción con polímeros de bajo peso molecular (hialuronato de sodio de peso molecular 300.000 Da, que tiene una viscosidad intrínseca de 600 ml/g (los expertos en la técnica están perfectamente familiarizados con la relación entre estos dos parámetros: peso molecular (M) y viscosidad intrínseca (η), que está dada por la fórmula de Mark-Houwink: $M = k \eta^\alpha$, dependiendo los valores de k y α de la naturaleza del polímero en cuestión), se puede concentrar de 110 a 200 mg/g). Desgraciadamente el polímero reticulado obtenido genera un hidrogel inyectable bifásico no homogéneo en estas condiciones.

25 En tal contexto, los inventores establecieron sorprendentemente que asociar un polímero de bajo peso molecular de NaHA con un polímero de alto peso molecular de NaHA proporciona un excelente compromiso, a saber, la posibilidad de generar, para un grado de reticulación no excesivo (equivalente al de la técnica anterior), un hidrogel monofásico inyectable que tiene mejoradas propiedades mecánicas y de remanencia. Esta asociación de bajo peso molecular/alto peso molecular hace posible obtener un hidrogel que satisface con creces las siguientes especificaciones:

- 30 - monofásico;
- mejores propiedades mecánicas y remanencia que los productos equivalentes de la técnica anterior;
- no afectada o incluso mejorada inyectabilidad que es aún posible con fuerzas de inyección convencionales usando dispositivos de inyección convencionales.

35 El factor clave de los procedimientos de reticulación de la invención por lo tanto radica en la concentración de los reactantes (que es mayor que la de las mezclas de reacción de la técnica anterior debido al uso de polímero(s) de bajo peso molecular), aunque la reticulación de dichos reactantes concentrados esté "gobernada" por el uso de polímero(s) de alto peso molecular, que garantiza la homogeneidad del producto reticulado obtenido y a continuación del hidrogel obtenido.

40 Según su primer caso, la presente invención por lo tanto se refiere a un procedimiento para la reticulación de hialuronato de sodio (NaHA), que se lleva a cabo en un disolvente acuoso por la acción de una cantidad efectiva y no excesiva de por lo menos un agente de reticulación, de modo que dicha cantidad asegura teóricamente un grado de reticulación definido por la relación: $100 \times$ (número total de grupos reactivos en dicho agente de reticulación/número total de unidades de disacárido en las moléculas de polímero presentes) comprendida entre 0,5 y 70%, estando mejorado dicho procedimiento por el hecho de que se lleva a cabo en una mezcla de NaHA que

45 ocurre en la forma de dos pesos moleculares diferenciados que contiene más de 50% en peso de NaHA de bajo peso molecular medio $m \approx 3 \times 10^5$ Da, determinado con la viscosidad intrínseca, y menos de 50%, pero por lo menos 5% en peso de NaHA de alto peso molecular medio $M \approx 3 \times 10^6$ Da, determinado con la viscosidad intrínseca.

50 Dicha mezcla por supuesto contiene dicho(s) polímero(s) de bajo peso molecular en una cantidad suficiente para garantizar una relativamente alta concentración de polímero(s) en el medio de reacción, y dicho(s) polímero(s) de alto peso molecular en una cantidad suficiente para garantizar que dicho polímero reticulado obtenido tiene una consistencia homogénea.

En el contexto de la reticulación de este tipo de polímero, los expertos en la técnica entienden que dicha reticulación se lleva a cabo en un disolvente acuoso básico. En general, dicha reticulación se lleva a cabo obviamente en condiciones de pH que promueven la disolución del polímero en cuestión.

En tal contexto, dicha mezcla de reacción ventajosamente tiene una viscosidad intrínseca de menos de 1.900 ml/g, es decir, $\sum \omega_i [\eta]_i < 1.900$ ml/g, en la que ω_i es la fracción de masa de la fracción de polímero i , que tiene una viscosidad intrínseca $[\eta]_i$, en la mezcla de reacción. Los expertos en la técnica están familiarizados con el parámetro viscosidad intrínseca y son conscientes de las leyes de aditividad de dicho parámetro.

- 5 El estado citado anteriormente hace posible obtener un hidrogel monofásico que está optimizado respecto a sus propiedades de remanencia e inyectabilidad. Fija las proporciones relativas de las sales de bajo peso molecular (m) y alto peso molecular (M).

En el contexto al que nos referimos aquí (NaHA de pesos moleculares m y M), la mezcla de reacción contiene ventajosamente más del 70% en peso de NaHA de bajo peso molecular m , y por consiguiente, lógicamente, 10 ventajosamente menos del 30% en peso de NaHA de alto peso molecular M .

Se puede usar como agente de reticulación cualquier agente conocido para reticular polisacáridos y sus derivados vía sus grupos hidroxilo, siendo dicho agente de reticulación por lo menos bifuncional para asegurar la reticulación, siendo usado en particular un compuesto epoxi o sus derivados.

- 15 Se recomienda usar agentes de reticulación bifuncionales, por si mismos o mezclados. Se recomienda particularmente usar epiclorohidrina, divinilsulfona, 1,4-bis(2,3-epoxipropoxi)butano (o 1,4-bisglicidoxibutano o 1,4-butanodiol-diglicidil-éter (BDDE)), 1,2-bis(2,3-epoxipropoxi)etileno, 1-(2,3-epoxipropil)-2,3-epoxiciclohexano, y aldehídos tales como formaldehído, glutaraldehído y crotonaldehído, por si mismos o mezclados. Se recomienda muy particularmente usar 1,4-bis(2,3-epoxipropoxi)butano o BDDE.

- 20 Los expertos en la técnica sabrán como determinar la cantidad efectiva y no excesiva de agente(s) de reticulación a usar. Se recomienda usar una cantidad efectiva y no excesiva de tal modo que asegure teóricamente un grado de reticulación (τ), definido por la siguiente relación:

$$\tau = \left[\frac{\text{Número total de grupos reactivos en dicho agente de reticulación}}{\text{Número total de unidades de disacárido en las moléculas de polímero}} \right] \times 100,$$

que está ventajosamente comprendida entre 4 y 50%.

- 25 El procedimiento de reticulación de la invención es nuevo en virtud de las formas en las que se usan los polímeros en cuestión. En otros aspectos se lleva a cabo de manera convencional con por lo menos un agente de reticulación. Se advierte que dicho agente de reticulación generalmente se hace reaccionar con el(los) polímero(s) disuelto(s), pero hacerlo reaccionar con dicho(s) polímero(s) durante la hidratación, por el procedimiento descrito en el documento WO-A-02 06 350, no está en absoluto descartado.

- 30 El producto reticulado obtenido después de llevar a cabo el procedimiento de reticulación de la invención se formula generalmente para generar el hidrogel monofásico inyectable deseado. Si es necesario, se neutraliza de antemano. Se ha visto que dichas sales de sodio de ácido hialurónico se reticulan de hecho en un medio básico. La formulación se lleva a cabo en una disolución tamponada a un pH compatible con el cuerpo humano (dado que el hidrogel en cuestión se desea generalmente para inyección en el cuerpo humano), estando dicho pH entre 6,5 y 7,5, 35 ventajosamente entre 7 y 7,4 y muy ventajosamente entre 7,1 y 7,3. El polímero reticulado está en equilibrio en dicha disolución. También adquiere una osmolaridad compatible con la del cuerpo humano. Sorprendentemente, después de esta etapa de formulación, los polímeros reticulados diluidos de la invención son hidrogeles monofásicos.

- 40 En una variante preferida de llevar a cabo la invención, se prepara un hidrogel inyectable de la invención reticulando una mezcla de por lo menos un polímero que consiste en sal(es) de ácido hialurónico (véase anteriormente), neutralizando el producto reticulado obtenido, y a continuación formulándolo en forma de disolución tamponada a un pH de entre 7,1 y 7,3, a una concentración de entre 10 y 40 mg/g, ventajosamente de entre 20 y 30 mg/g.

- 45 El procedimiento para la preparación del hidrogel monofásico inyectable del polímero reticulado (obtenido por el procedimiento de reticulación que constituye el primer caso de la presente invención) constituye el segundo caso de la presente invención.

Llegamos ahora al tercer y cuarto caso, que respectivamente consisten en el polímero reticulado obtenible después de llevar a cabo el procedimiento de reticulación (primer caso), y el hidrogel monofásico inyectable obtenible por la formulación (segundo caso) de dicho polímero reticulado, como se afirma anteriormente.

- 50 La estructura del hidrogel monofásico inyectable – cuarto caso de la presente invención – es nueva. Su consistencia es resistente a la degradación. Esta resistencia del hidrogel es mucho mayor que la de productos equivalentes de la técnica anterior.

Los expertos en la técnica son conscientes de que uno de los métodos de estimar la consistencia de un hidrogel, especialmente de este tipo, es medir el siguiente parámetro:

$\tan \delta = G''/G' = f$ (frecuencia de esfuerzo)

Los hidrogeles de la invención tienen las salidas indicadas en la introducción del presente texto. Se encuentra que son particularmente eficientes para estos propósitos.

5 Se propone ahora ilustrar la invención en sus varias características por medio de los Ejemplos a continuación. Más precisamente:

- El Ejemplo 1 ilustra la técnica anterior (reticulación de NaHA de alto peso molecular);

- El Ejemplo 2 ilustra las observaciones hechas en la introducción del presente texto (reticulación de NaHA de bajo peso molecular); y

10 - Los Ejemplos 3 y 4 ilustran la invención (reticulación de NaHA de bajo y alto peso molecular, usados en diferentes cantidades relativas).

Estos van precedidos de una descripción de unos pocos métodos de medida usados para caracterizar los productos en cuestión.

Medida de la viscosidad intrínseca

15 La viscosidad intrínseca de hialuronato de sodio (NaHA) (en ml/g) se determina según la Farmacopea Europea para NaHA (2.2.9) usando un viscosímetro capilar del tipo Ubbelohde.

Medida de la fuerza de eyección (sin estándar específico para este ensayo)

La inyectabilidad del gel basado en NaHA se determina midiendo la fuerza (en Newtons, N) requerida para eyectar el gel contenido en una jeringa estándar, a través de una aguja de 27 G $\frac{1}{2}$, a una velocidad de 12,5 mm/min. Los ensayos se efectuaron en un dispositivo de tracción Verstatet® comercializado por Mecmesin.

20 Medida de la remanencia

La consistencia del gel se caracteriza a 25°C por la medida reológica de los módulos de elasticidad (G') y viscosidad (G'') en función de la frecuencia (de 0,05 a 10 Hz), en los dominios de deformación constante, usando un reómetro de esfuerzo controlado (Carrimed CSL 500 de TA Instruments) y una geometría de cono y placa de 4 cm 2° . Este reómetro se verifica y calibra regularmente. La degradación del gel reticulado da como resultado un cambio de su consistencia, que se mide por el incremento en el parámetro tangente de delta ($\tan \delta = G''/G'$) en función del tiempo, a una frecuencia de 1 Hz. Los geles se degradan al ser calentados a una temperatura de 93°C. El tiempo después del que $\tan \delta$ llega a un valor de 0,65 (correspondiente a un estado de gel degradado) se mide a esta temperatura. Se estableció arbitrariamente un índice de remanencia de 1 (correspondiente a dicho tiempo) para el gel del Ejemplo 1. Los valores del índice de remanencia indicados para los otros geles son valores relativos.

30 Aspecto del hidrogel

Monofásico

Aspecto microscópico: sin fase líquida aparente – fragmentación fina del gel en facetas.

Aspecto macroscópico: blando y fluido

Bifásico

35 Aspecto microscópico: fragmentos de gel bañados en un medio líquido de baja viscosidad

Aspecto macroscópico: “puré” que se fragmenta muy fácilmente – sin cohesión del gel y sin aspecto fluido.

Ejemplo de referencia 1: fibras de alto peso molecular

40 Se pesan 3,5 g de fibras de hialuronato de sodio (NaHA) de viscosidad intrínseca 2.800 ml/g y 8,7% de contenido de humedad y se añaden 25,6 g de NaOH 0,25N. La hidratación de las fibras tarda 2 h con homogeneización manual regular usando una espátula. Se añaden al medio de reacción 0,96 g de una disolución de 1,4-butanodiol-diglicidil-éter (BDDE) diluida a 1/5 en disolución de hidróxido de sodio 0,25N, siendo esto seguido de homogeneización mecánica durante 15 min antes de la inmersión en un baño controlado termostáticamente a 50°C \pm 1°C.

$R = [BDDE]_0/[NaHA]_0 = 6\%$; $[NaHA]_i = 105 \text{ mg/g}$

45 La reacción tarda 2 h. El producto reticulado se neutraliza a pH 7,2 en una disolución tampón de fosfato y a continuación se dializa. La concentración del hidrogel resultante se ajusta a continuación ($[NaHA]_f = 26 \text{ mg/g}$) y el hidrogel se homogeneiza mecánicamente antes de ser envasado en jeringas y esterilizado en un autoclave por medio de calor húmedo.

Fuerza de inyección después de la esterilización: 25 N

Índice de remanencia del hidrogel: 1,0

Hidrogel monofásico.

Ejemplo de referencia 2: fibras de bajo peso molecular

5 Se pesan 1,56 g de fibras de hialuronato de sodio (NaHA) de viscosidad intrínseca 600 ml/g y 5,5% de contenido de humedad y se añaden 7,15 g de NaOH 0,25N. La hidratación de las fibras tarda 2 h con homogeneización manual regular usando una espátula. Se añaden al medio de reacción 0,31 g de una disolución de 1,4-butanodiol-diglicidil-éter (BDDE) diluida a 1/5 en disolución de hidróxido de sodio 0,25N, siendo esto seguido de homogeneización mecánica durante 15 min antes de la inmersión en un baño controlado termostáticamente a $50^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

10 $R = [\text{BDDE}]_0 / [\text{NaHA}]_0 = 6,8\%$; $[\text{NaHA}]_i = 174 \text{ mg/g}$

La reacción tarda 2 h. El producto reticulado se neutraliza a pH 7,2 en una disolución tampón de fosfato y a continuación se dializa. La concentración del hidrogel resultante se ajusta a continuación ($[\text{NaHA}]_f = 26 \text{ mg/g}$) y el hidrogel se homogeneiza mecánicamente antes de ser envasado en jeringas y esterilizado en un autoclave.

Fuerza de inyección después de la esterilización: 24 N

15 Índice de remanencia del hidrogel: 6,0

Hidrogel bifásico.

Ejemplo 3 según la invención: mezcla de fibras

20 Se pesan 0,763 g de fibras de hialuronato de sodio (NaHA) de viscosidad intrínseca 600 ml/g y 5,5% de contenido de humedad y 0,237 g de fibras de hialuronato de sodio de viscosidad intrínseca 2.800 ml/g y 9,3% de contenido de humedad. Proporciones en peso en la mezcla: 600/2.800 : 77/23 (peso/peso).

El procedimiento sigue siendo idéntico al del Ejemplo 2.

$R = [\text{BDDE}]_0 / [\text{NaHA}]_0 = 7\%$; $[\text{NaHA}]_i = 140 \text{ mg/g}$; $[\text{NaHA}]_f = 26 \text{ mg/g}$

Fuerza de inyección después de la esterilización: 15 N

Índice de remanencia del hidrogel: 3,6

25 Hidrogel monofásico.

Ejemplo 4 según la invención: mezcla de fibras

Se repite el experimento del Ejemplo 3, modificando las proporciones en peso. Proporciones en peso en la mezcla: 600/2.800 : 90/10 (peso/peso).

El procedimiento es idéntico al del Ejemplo 2.

30 $R = [\text{BDDE}]_0 / [\text{NaHA}]_0 = 6,5\%$; $[\text{NaHA}]_i = 140 \text{ mg/g}$; $[\text{NaHA}]_f = 26 \text{ mg/g}$

Fuerza de inyección después de la esterilización: 14 N

Índice de remanencia del hidrogel: 7,7

Hidrogel monofásico.

Dichos ejemplos se resumen en la Tabla a continuación.

35

40

Tabla

$[\text{NaHA}]_0$ = concentración de NaHA en el medio de reacción a t_0

$[\text{NaHA}]_f$ = concentración de NaHA en el hidrogel final después de la reacción y dilución con una cantidad suficiente de tampón de fosfato

G': módulo de elasticidad del hidrogel final (Pa.s)				Reómetro Carrimed CSL 500				
G'': módulo de viscosidad del hidrogel final (Pa.s)								
tan delta = G''/G'								
η _{int} : viscosidad intrínseca de la fibra de NaHA / viscosímetro Ubbelohde								
F: fuerza de eyección del gel en N a través de una aguja 27 G½ / dinamómetro de 100 N								
Nº	η _{int} (ml/g) % = proporción en peso en la mezcla	R= m _{BDDE} /m _{NaHA}	[NaHA] ₀ mg/g	[NaHA] _f en el gel final mg/g	Aspecto*	G', G'', tan delta (1Hz)	F _{después de la esterilización.} 27 G½	Índice de remanencia
1	(100%) 2.800	6%	105	26	M	143/65/0,40	25	1
2	(100%) 600	6,8%	174	26	B	1.300/100/0,08	24	6
3	(77%) 600 + (23%) 2.800	7	140	26	M	262/27/0,10	15	3,6
4	(90%) 600 + (10%) 2.800	6,5	140	26	M	571/41/0,07	14	7,7

5 * M = monofásico

B= bifásico

La Figura adjunta muestra la siguiente curva:

tan delta = f (frecuencia de esfuerzo) para cada uno de los cuatro hidrogeles preparados según los Ejemplos 1 a 4.

10 El comportamiento reológico de los hidrogeles según 3 y 4 es diferente del del hidrogel de la técnica anterior (Ejemplo 1).

Además, los hidrogeles de la invención son monofásicos y de este modo muy diferentes del hidrogel del Ejemplo 2 (bifásico).

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la reticulación de hialuronato de sodio (NaHA) que se lleva a cabo en un disolvente acuoso por la acción de una cantidad efectiva y no excesiva de por lo menos un agente de reticulación tal que dicha cantidad asegura teóricamente un grado de reticulación, definido por la relación: $100 \times (\text{número total de grupos reactivos en dicho agente de reticulación/número total de unidades de disacárido en las moléculas de polímero presentes})$, que está entre 0,5 y 70%, caracterizado por el hecho de que se lleva a cabo:
 - en una mezcla de hialuronato de sodio que ocurre en la forma de dos pesos moleculares diferenciados que contiene:
 - más de 50% en peso de NaHA de bajo peso molecular medio $m \approx 3 \times 10^5$ Da, determinado con la ayuda de la viscosidad intrínseca, y
 - menos de 50%, pero por lo menos 5% en peso de NaHA de alto peso molecular medio $M \approx 3 \times 10^6$ Da, determinado con la ayuda de la viscosidad intrínseca.
2. Un procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por el hecho de que dicha mezcla tiene una viscosidad intrínseca de menos de 1.900 ml/g.
3. Un procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por el hecho de que dicha mezcla contiene más de 70% en peso de por lo menos un NaHA de dicho bajo peso molecular medio m y menos de 30% en peso de por lo menos un NaHA de dicho alto peso molecular medio M .
4. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por el hecho de que dicha mezcla contiene alrededor de 90% en peso de NaHA que tiene un peso molecular medio de alrededor de $3 \cdot 10^5$ Da y alrededor de 10% en peso de NaHA que tiene un peso molecular medio de alrededor de $3 \cdot 10^6$ Da.
5. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por el hecho de que dicho agente de reticulación se selecciona de agentes de reticulación bifuncionales y sus mezclas.
6. Un procedimiento según la reivindicación 5, caracterizado por el hecho de que dicho agente de reticulación se selecciona de epíclorohidrina, divinilsulfona, 1,4-bis(2,3-epoxipropoxi)butano, 1,2-bis(2,3-epoxipropoxi)etileno, 1-(2,3-epoxipropil)-2,3-epoxiciclohexano, aldehídos y sus mezclas.
7. Un procedimiento según la reivindicación 5, caracterizado por el hecho de que dicho agente de reticulación es 1,4-bis(2,3-epoxipropoxi)butano.
8. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por el hecho de que dicha cantidad efectiva y no excesiva de por lo menos un agente de reticulación asegura teóricamente un grado de reticulación, definido por la relación: $100 \times (\text{número total de grupos reactivos en dicho agente de reticulación/número total de unidades de disacárido en las moléculas de polímero presentes})$, que está entre 4 y 50%.
9. Un procedimiento para la preparación de un hidrogel monofásico inyectable de polímero reticulado de NaHA, caracterizado por el hecho de que comprende:
 - la reticulación de una mezcla según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8;
 - la formulación de dicha mezcla reticulada, neutralizada si es necesario, en forma de una disolución tamponada a un pH de entre 6,5 y 7,5.
10. Un procedimiento para la preparación de un hidrogel monofásico inyectable de polímero reticulado de NaHA según la reivindicación 9, caracterizado por el hecho de que comprende:
 - la formulación de dicha mezcla reticulada, neutralizada si es necesario, en forma de una disolución tamponada a un pH de entre 7 y 7,4.
11. Un procedimiento para la preparación de un hidrogel monofásico inyectable de polímero reticulado de NaHA según la reivindicación 9, caracterizado por el hecho de que comprende:
 - la formulación de dicha mezcla reticulada, neutralizada si es necesario, en forma de una disolución tamponada a un pH de entre 7,1 y 7,3.
12. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, caracterizado por el hecho de que comprende:
 - la reticulación de una mezcla según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8;
 - la formulación de dicha mezcla reticulada, neutralizada, en forma de una disolución tamponada a un pH de entre

7,1 y 7,3, a una concentración de entre 10 y 40 mg/g.

13. Un procedimiento según la reivindicación 12, caracterizado por el hecho de que la formulación de dicha mezcla reticulada, neutralizada, en forma de una disolución tamponada a un pH de entre 7,1 y 7,3 se efectúa a una concentración de entre 20 y 30 mg/g.

5 14. Un polímero reticulado obtenible llevando a cabo un procedimiento de reticulación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

15. Un hidrogel monofásico inyectable obtenible llevando a cabo un procedimiento preparativo según las reivindicaciones 9 a 13.

10

15

20

25

30

35

