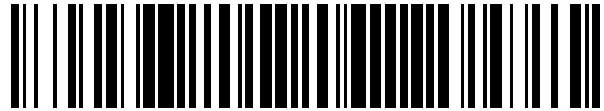


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 548 187**

51 Int. Cl.:

A61L 27/14	(2006.01)	A61L 27/20	(2006.01)
A61L 31/04	(2006.01)		
A61K 8/73	(2006.01)		
A61Q 5/00	(2006.01)		
A61Q 19/08	(2006.01)		
A61K 47/22	(2006.01)		
A61K 47/42	(2006.01)		
A61K 9/00	(2006.01)		
A61L 27/54	(2006.01)		
A61L 31/16	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.02.2012 E 12702536 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2015 EP 2670447**

54 Título: **Composición de ácido hialurónico que comprende un derivado del ácido ascórbico**

30 Prioridad:

03.02.2011 EP 11153232

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

14.10.2015

73 Titular/es:

**Q-MED AB (100.0%)
Seminariegatan 21
752 28 Uppsala, SE**

72 Inventor/es:

**EDSMAN, KATARINA y
WIEBENSJÖ, ÅSA**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 548 187 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

Composición de ácido hialurónico que comprende un derivado del ácido ascórbico

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al campo de composiciones inyectables de ácido hialurónico y al uso de dichas composiciones en aplicaciones cosméticas.

Antecedentes

10 Uno de los polímeros biocompatibles usados más ampliamente para uso médico es el ácido hialurónico. Es un polisacárido que existe en la naturaleza y que pertenece al grupo de los glicosaminoglicanos (GAG). El ácido hialurónico y los otros GAG son cadenas de heteropolisacáridos con carga eléctrica negativa que tienen la capacidad de absorber grandes cantidades de agua. El ácido hialurónico y los productos derivados de éste se usan ampliamente en los campos biomédico y cosmético, por ejemplo, en viscosirugía y como relleno dérmica,

15 Los geles absorbentes de agua, o hidrogeles, se usan ampliamente en el campo biomédico. Se preparan generalmente por reticulación química de polímeros que forman redes infinitas. Mientras que el ácido hialurónico natural y ciertos productos reticulados de ácido hialurónico absorben agua hasta ser disueltos completamente, los geles reticulados de ácido hialurónico absorben típicamente una cierta cantidad de agua hasta que se saturan, esto es, tienen una capacidad finita de retención de líquidos o grado de hinchamiento.

20 Como el ácido hialurónico está presente con estructura química idéntica, excepto su masa molecular, en la mayoría de los organismos vivos, da un mínimo de reacciones y permite usos médicos avanzados. La reticulación y/u otras modificaciones de la molécula de ácido hialurónico son necesarias para mejorar su duración *in vivo*. También, dichas modificaciones afectan a la capacidad de retención de líquidos de la molécula de ácido hialurónico. Como consecuencia, el ácido hialurónico ha sido el objeto de muchos intentos de modificaciones.

Los productos inyectables de ácido hialurónico se combinan frecuentemente con un anestésico adecuado, por ejemplo, lidocaína, para reducir el dolor y molestias que sufre el paciente debido al procedimiento de inyección.

Descripción de la invención

25 Un objeto de la presente invención es proporcionar una composición inyectable mejorada de ácido hialurónico para aplicaciones médicas y/o no médicas.

30 Antes de su uso, las composiciones inyectables de ácido hialurónico necesitan ser esterilizadas. La esterilización se realiza generalmente por tratamiento térmico, como calentamiento en una autoclave. El tratamiento térmico origina generalmente una reducción de la rigidez o viscosidad de la composición de ácido hialurónico. Como se ha mencionado anteriormente, los productos inyectables de ácido hialurónico se combinan frecuentemente con un anestésico adecuado, por ejemplo, lidocaína, para reducir el dolor o molestias que sufre el paciente debido al procedimiento de inyección. Se ha observado que la adición de ciertos anestésicos usados comúnmente, por ejemplo, lidocaína, contrarresta el efecto del tratamiento térmico sobre la reología de una composición de ácido hialurónico de modo que la composición resultante es más rígida o viscosa que un gel sin lidocaína. Este cambio en la reología puede ser inconveniente en algunas aplicaciones, por ejemplo, en aplicaciones en las que se requiera o desee una inyección poco profunda del gel, y/o en las que se requiera o desee una aguja fina. Ejemplos de dichas aplicaciones incluyen revitalización de la piel y aumento de tejidos blandos, por ejemplo, relleno de arrugas o contorno de la cara o cuerpo, por inyecciones de gel de ácido hialurónico.

40 El documento US2006/1221474 describe composiciones inyectables que comprenden ácido hialurónico, un anestésico local, como lidocaína, y un derivado del ácido ascórbico como interceptor radical.

45 Se ha encontrado ahora que la adición de una cantidad relativamente pequeña de un derivado del ácido ascórbico seleccionado del grupo que consiste en ascorbilfosfatos, ascorbilsulfatos y ascorbilglicósidos a una composición de ácido hialurónico que comprende un anestésico local seleccionado del grupo que consiste en anestésicos locales del tipo amida o del tipo éster puede reducir eficazmente el "incremento de la viscosidad" de la composición de ácido hialurónico originado por el anestésico local tras la esterilización de la composición en un autoclave. Por lo tanto, la adición de una cantidad relativamente pequeña de uno de estos derivados del ácido ascórbico a una composición de ácido hialurónico que comprende un anestésico local puede facilitar el uso de aguas más finas para la inyección sin incrementar la fuerza requerida para expulsar la composición y sin hacer cambios en el componente de ácido hialurónico. También, la reducción de la viscosidad y/o del módulo elástico G' de la solución es conveniente en aplicaciones en las que la composición se inyecta próxima a la superficie de la piel, por ejemplo, en revitalización de la piel a aumento de tejidos blandos, por ejemplo, relleno de arrugas o contorno de la cara o cuerpo, por inyección de gel de ácido hialurónico.

El efecto del derivado del ácido ascórbico sobre la viscosidad y/o el módulo elástico G' en la composición ha sido demostrado en ácidos hialurónico tanto modificados como no modificados, por ejemplo, ácidos hialurónicos reticulados, lo cual indica que es común a todas las composiciones que comprenden ácido hialurónico.

5 Además del ventajoso efecto sobre la viscosidad y/o el módulo elástico G' en la composición, la adición de uno de estos derivados del ácido ascórbico a la composición puede proporcionar también otros beneficios. El ácido ascórbico (conocido también como vitamina C) y sus derivados pueden actuar como agentes reductores y eliminar agentes oxidantes y radicales agresivos. Como el ácido ascórbico y sus derivados pueden aumentar la formación de colágeno, pueden mejorar la morfología de la piel. También pueden aumentar la formación de una barrera epidérmica, reducir la pérdida de agua a través de la epidermis, mejorar la cicatrización de heridas y desempeñar así un papel importante en la prevención del envejecimiento de la piel y de dolencias asociadas a piel seca. El ácido ascórbico y sus derivados son conocidos por sus propiedades antiinflamatorias y fotoprotectoras así como por su acción sobre la mejora del daño de la piel inducido por radiaciones ultravioletas. También se ha demostrado que el ácido ascórbico y sus derivados pueden mejorar clínicamente dolencias dermatológicas que tienen inflamación como componente del proceso de la enfermedad, como psoriasis y eccema asteotótica. Como el ácido ascórbico y sus derivados pueden eliminar la formación de melanina, tienen también efecto de blanqueamiento de la piel y también se ha demostrado que mejoran clínicamente la melasma y pecas seniles. También pueden favorecer el crecimiento del cabello. También se ha sugerido que el ácido ascórbico y sus derivados tienen propiedades anticancerígenas.

20 La adición de un derivado del ácido ascórbico a la composición de ácido hialurónico no tiene generalmente ningún efecto, o tiene un efecto pequeño, sobre la estabilidad de la composición. En especial, se ha observado que la adición de un derivado del ácido ascórbico no incrementa la estabilidad de la composición de ácido hialurónico. Estudios de los autores de la presente invención han demostrado que la adición de uno de estos derivados del ácido ascórbico puede originar a veces una ligera disminución de la estabilidad de la composición de ácido hialurónico. Sin embargo, los autores de la presente invención han encontrado que las ventajas asociadas con la adición de derivados del ácido ascórbico pesan más que la ligera disminución de la estabilidad originada por la adición en algunos casos. Para evitar una disminución innecesaria de la estabilidad de la composición de ácido hialurónico, la concentración del derivado del ácido ascórbico se debe mantener por debajo de la concentración máxima especificada más adelante.

De acuerdo con aspectos ilustrados en la presente memoria, se proporciona una composición inyectable de ácido hialurónico que comprende:

- 30 ÷ un ácido hialurónico,
- ÷ un anestésico local seleccionado del grupo que consiste en anestésicos locales del tipo amida y del tipo éster o una combinación de estos, y
- ÷ un derivado del ácido ascórbico seleccionado del grupo que consiste en ascorbilfosfatos, ascorbilsulfatos y ascorbilglicósidos, en una cantidad que evite o reduzca el efecto sobre la viscosidad y/o el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

40 El término "inyectable" significa que la composición de ácido hialurónico se proporciona en una forma adecuada para inyección parenteral, por ejemplo, en tejidos blandos, como la piel, de un sujeto o paciente. Una composición inyectable debe ser estéril y estar exenta de componentes que puedan originar reacciones negativas cuando se introduzca en tejidos blandos, como la piel, de un sujeto o paciente. Esto implica que en el individuo tratado no se produzca respuesta inmune, o sólo una muy débil. Esto es, en el individuo tratado no se producen efectos locales o sistémicos no deseables, o sólo unos muy débiles.

45 La viscosidad y/o el módulo elástico G' de la composición de ácido hialurónico se pueden medir de acuerdo con diversos métodos bien conocidos por los expertos en la materia. La viscosidad se puede medir, por ejemplo, como "viscosidad a cizalladura cero (η_0)" por viscosimetría rotacional usando un reómetro VOR Bohlin (sistema de medición C14 o PP30; abertura 1,00 mm). También se pueden aplicar otros métodos de medición de la viscosidad. El módulo elástico G' se puede medir, por ejemplo, usando un reómetro VOR Bohlin (sistema de medición PP30; abertura 1,00 mm) realizando un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica (LVR) y midiendo después las propiedades viscoelásticas en la LVR. También se pueden aplicar otros métodos de medición del módulo elástico G' .

50 Preferiblemente la composición inyectable de ácido hialurónico es acuosa y preferiblemente el ácido hialurónico, el anestésico local y el derivado del ácido ascórbico se hinchan, disuelven o dispersan en la fase acuosa.

55 La composición inyectable de ácido hialurónico comprende un ácido hialurónico. El ácido hialurónico puede ser un ácido hialurónico modificado, por ejemplo, ramificado o reticulado. De acuerdo con ciertas realizaciones, el ácido hialurónico es un ácido hialurónico reticulado. De acuerdo con realizaciones específicas, el ácido hialurónico es un gel de ácido hialurónico.

Salvo que se especifique lo contrario, el término "ácido hialurónico" comprende todas las variantes y combinaciones de variantes de ácido hialurónico, hialuronatos o hialuronanos, de diversas longitudes y estados de carga eléctrica,

así como con diversas modificaciones, incluida reticulación. Esto es, el término comprende también las diversas sales hialuronatos del ácido hialurónico con diversos cationes, como hialuronato sódico. En el término también están comprendidas diversas modificaciones del ácido hialurónico, como oxidación, por ejemplo, oxidación de grupos $-\text{CH}_2\text{OH}$ a $-\text{CHO}$ y/o $-\text{COOH}$; oxidación de grupos hidroxilo vecinales por peryodato, seguida opcionalmente de reducción, por ejemplo, reducción de $-\text{CHO}$ a $-\text{CH}_2\text{OH}$, o acoplamiento con aminas para formar iminas seguido de reducción a aminas secundarias; sulfatación; desamidación seguida de desaminación o formación de amidas con nuevos ácidos; esterificación; reticulación; sustituciones con diversos compuestos, por ejemplo, usando un agente de reticulación o un acoplamiento ayudado por una carbodiimida, incluido acoplamiento de diferentes moléculas, como proteínas, péptidos y componentes farmacológicos activos, al ácido hialurónico; y desacetilación. Otros ejemplos de modificaciones son acoplamientos con isourea, hidrazida, bromociano, monoepóxido y monosulfona.

El ácido hialurónico se puede obtener de diversas procedencias de origen animal y no animal. Procedencias de origen animal incluyen levaduras y preferiblemente bacterias. El peso molecular de una molécula simple de ácido hialurónico está típicamente en el intervalo de 0,1–10 MDa, aunque son posibles otros pesos moleculares.

En ciertas realizaciones, la concentración del citado ácido hialurónico está en el intervalo de 1 a 100 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración del citado ácido hialurónico está en el intervalo de 2 a 50 mg/ml. En realizaciones específicas, la concentración del citado ácido hialurónico está en el intervalo de 5 a 30 mg/ml o en el intervalo de 10 a 30 mg/ml. En ciertas realizaciones, el ácido hialurónico está reticulado. El ácido hialurónico reticulado comprende reticulaciones entre las cadenas de ácido hialurónico, que crean una red continua de moléculas de ácido hialurónico que se mantienen unidas por las reticulaciones covalentes, entrecruzamiento químico de las cadenas de ácido hialurónico y diversas interacciones, como interacciones electrostáticas, unión por hidrógeno y fuerzas de Van der Waals.

La reticulación del ácido hialurónico se puede conseguir mediante modificación con un agente químico de reticulación. El agente químico de reticulación se puede seleccionar, por ejemplo, del grupo que consiste en divinil sulfona, multiepóxidos y diepóxidos. De acuerdo con realizaciones, el agente químico de reticulación se selecciona del grupo que consiste en 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), 1,2-etanodiol diglicidil éter (EDDE) y diepoxioctano. De acuerdo con una realización preferida, el agente químico de reticulación es 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE).

Preferiblemente el ácido hialurónico reticulado producido es biocompatible. Esto implica que en el individuo tratado no se produce respuesta inmune o sólo una muy débil. Esto es, en el individuo tratado no se producen efectos locales o sistémicos no deseables o sólo unos muy débiles.

El ácido hialurónico reticulado producido de acuerdo con la invención puede ser un gel o un hidrogel. Esto es, puede ser considerado como insoluble en agua, pero como un sistema reticulado sustancialmente diluido de moléculas de ácido hialurónico cuando se someta a un líquido, típicamente un líquido acuoso.

El gel contiene principalmente líquido en peso y puede contener, por ejemplo, 90-99,9% de agua, pero se comporta como un sólido debido a la red tridimensional de ácido hialurónico reticulado presente en el líquido. Debido a su significativo contenido líquido, el gel es estructuralmente flexible y similar a un tejido natural, lo cual lo hace muy útil como andamio en ingeniería tisular y para aumento de tejidos.

Como se ha mencionado, la reticulación del ácido hialurónico para formar el gel de ácido hialurónico reticulado se puede conseguir, por ejemplo, por modificación con un agente químico de reticulación, por ejemplo, BDDE (1,4-butanodiol diglicidil éter). La concentración del ácido hialurónico y el grado de reticulación afectan a las propiedades mecánicas, por ejemplo, al módulo elástico G' , y a las propiedades de estabilidad del gel. Los geles de ácido hialurónico reticulado se caracterizan frecuentemente por su "grado de modificación". El grado de modificación de geles de ácido hialurónico varía generalmente entre 0,1 y 15% en moles. Se ha encontrado que el efecto del derivado del ácido ascórbico sobre la viscosidad y/o el módulo elástico G' en la composición de acuerdo con la presente invención es particularmente pronunciado en geles de ácido hialurónico reticulado con un grado bajo de modificación. El efecto más pronunciado se obtiene en geles de ácido hialurónico con un grado de modificación de 2% en moles o menos, como 1,5% en moles o menos, por ejemplo, en el intervalo de 0,1 a 2% en moles, como en el intervalo de 0,2 a 1,5% en moles, como en el intervalo de 0,3 a 1,25% en moles, en comparación con geles de ácido hialurónico más reticulados. El grado de modificación (% en moles) describe la cantidad de agente(s) de reticulación que está(n) unido(s) al ácido hialurónico, esto es, la cantidad de agente(s) de reticulación unido(s) con respecto a la cantidad molar total de unidades repetitivas de disacárido del ácido hialurónico. El grado de modificación refleja en qué grado el ácido hialurónico ha sido modificado por el agente de reticulación. Las condiciones de la reacción de reticulación y las técnicas analíticas adecuadas para determinar el grado de modificación son bien conocidas por los expertos en la materia, que pueden ajustar fácilmente estos y otros factores relevantes y proporcionar así las condiciones adecuadas para obtener un grado de modificación en el intervalo de 0,1-2% y verificar las características del producto resultante con respecto al grado de modificación. Un gel de ácido hialurónico reticulado por BDDE (1,4-butanodiol diglicidil éter) se puede preparar, por ejemplo, de acuerdo con el método descrito en los ejemplos 1 y 2 de la solicitud de patente internacional publicada WO 9704012.

En una realización preferida, el ácido hialurónico de la composición está presente en forma de gel de ácido hialurónico reticulado por un agente químico de reticulación, en el que la concentración del citado ácido hialurónico

está en el intervalo de 10 a 30 mg/ml y el grado de modificación con el citado agente químico de reticulación está en el intervalo de 0,1 a 2% en moles.

5 Los geles de ácido hialurónico también pueden comprender una porción de ácido hialurónico que no está reticulado, esto es, no unido a la red tridimensional de ácido hialurónico reticulado. Sin embargo, se prefiere que por lo menos el 50% en peso, preferiblemente por lo menos el 60% en peso, más preferiblemente por lo menos el 70% en peso y lo más preferiblemente por lo menos el 80% en peso del ácido hialurónico en una composición de gel forma parte de la red de ácido hialurónico reticulado.

10 La composición inyectable de ácido hialurónico comprende también un anestésico local seleccionado del grupo que consiste en anestésicos locales del tipo amida y del tipo éster o una combinación de estos. Un anestésico local es un fármaco que origina anestesia local reversible y una pérdida de nocicepción. Cuando se usa en caminos de nervios específicos (bloqueo de nervios) se pueden conseguir efectos tales como analgesia (pérdida de sensación de dolor) y parálisis (pérdida de potencia muscular). El anestésico local se puede añadir a la composición de ácido hialurónico para reducir dolor o molestias que sufre el paciente debido al procedimiento de inyección. Los grupos de anestésicos locales del tipo amida (denominado también comúnmente aminoamida) y del tipo éster (denominado también comúnmente aminoéster) están bien definidos y reconocidos en la técnica.

15 Las moléculas de anestésicos locales del tipo amida y del tipo éster se construyen en un plano químico simple, que consiste en una parte aromática unida por un enlace amida o éster a una cadena lateral básica. La única excepción es la benzocaína que no tiene grupo básico. Todos los otros anestésicos son bases débiles, con valores del pKa principalmente en el intervalo de 8–9, por lo que están muy ionizados, pero no totalmente, a pH fisiológicos. Como resultado de su similitud, se puede esperar que tengan características químicas y efectos físicos similares sobre la composición de ácido hialurónico.

20 De acuerdo con ciertas realizaciones, el anestésico local se selecciona del grupo que consiste en anestésicos del tipo amida y anestésicos del tipo éster, por ejemplo, bupivacaína, butanilicaína, carticaína, cincocaína (dibucaína), clibucaína, p-piperidinoacetilaminobenzoato de etilo, etidocaína, lignocaína (lidocaína), mepivacaína, oxetazaína, prilocaína, ropivacaína, tolicaína, trimecaína, vadocaína, articaína, levobupivacaína, amilocaína, cocaína, propanocaína, clormecaína, ciclometacaína, proximetacaína, ametocaína (tetracaína), benzocaína, butacaína, butoxicaína, aminobenzoato de butilo, cloroprocaína, dimetocaína (larocaína), oxibuprocaína, piperocaína, paretoxicaína, procaína (novocaína), propoxicaína, tricaína o una combinación de estas.

25 De acuerdo con ciertas realizaciones, el anestésico local se selecciona del grupo que consiste en anestésicos locales del tipo amida, por ejemplo, bupicaína, butanilicaína, carticaína, cincocaína (dibucaína), clibucaína, p-piperidinoacetilaminobenzoato de etilo, etidocaína, lignocaína (lidocaína), mepivacaína, oxetazaína, prilocaína, ropivacaína, tolicaína, trimecaína, vadocaína, articaína, levobupivacaína o una combinación de estas. De acuerdo con algunas realizaciones, el anestésico local se selecciona del grupo que consiste en bupivacaína, lidocaína y ropivacaína o una combinación de estas. De acuerdo con realizaciones específicas, el anestésico local es lidocaína. La lidocaína es una sustancia bien conocida, que se ha usado ampliamente como anestésico local en formulaciones inyectables, como composiciones de ácido hialurónico.

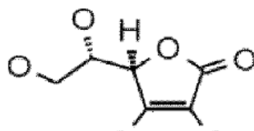
30 La concentración del anestésico local del tipo amida o del tipo éster puede ser seleccionada por personas expertas dentro de los intervalos de concentraciones terapéuticamente relevantes de cada anestésico local específico o de una combinación de estos.

35 En ciertas realizaciones la concentración del citado anestésico local está en el intervalo de 0,1 a 30 mg/ml. En algunas realizaciones la concentración del citado anestésico local está en el intervalo de 0,5 a 10 mg/ml.

40 Cuando se usa lidocaína como anestésico local, preferiblemente la lidocaína puede estar presente a una concentración en el intervalo de 1 a 5 mg/ml, más preferiblemente en el intervalo de 2 a 4 mg/ml, como a una concentración de aproximadamente 3 mg/ml.

45 La composición inyectable de ácido hialurónico comprende también un derivado del ácido ascórbico seleccionado del grupo que consiste en ascorbilfosfatos, ascorbilsulfatos y ascorbilglicósidos.

El término "derivado del ácido ascórbico" usado en la presente memoria significa ácido ascórbico o derivados del ácido ascórbico que comprenden la estructura química del ácido ascórbico. Así, el derivado del ácido ascórbico puede ser un compuesto que comprende la estructura química



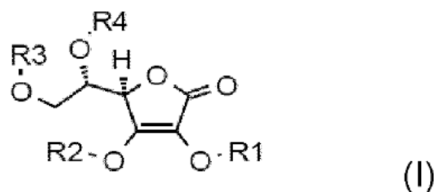
50

El derivado del ácido ascórbico puede ser soluble en agua. Preferiblemente la solubilidad del derivado del ácido ascórbico en agua bajo condiciones atmosféricas debe ser suficiente para permitir la disolución de una concentración deseada del derivado del ácido ascórbico en la composición. Preferiblemente la solubilidad del derivado del ácido ascórbico en agua bajo condiciones atmosféricas debe ser suficiente para permitir la disolución de 0,001 mg/ml o más, y más preferiblemente 0,01 mg/ml o más, en la composición de ácido hialurónico.

5

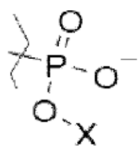
El derivado del ácido ascórbico debe ser capaz de formar ácido ascórbico o ascorbato *in vivo*, por ejemplo, por degradación enzimática mediada por fosfatasas, glucosidasas, etc. Así, de acuerdo con una realización, el derivado del ácido ascórbico es capaz de formar ácido ascórbico o ascorbato cuando se coloca en condiciones *in vivo*.

El derivado del ácido ascórbico es un compuesto que tiene la fórmula general



10

en la que R1, R2, R3 y R4 son, independientemente uno de otro, hidrógeno o un sustituyente orgánico y en el que por lo menos uno de R1, R2, R3 y R4 es



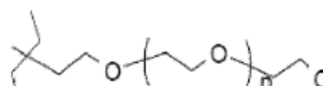
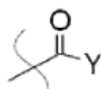
en el que X es hidrógeno, alquilo, alquenoilo, alquinilo, arilo, una amina, un alcohol, un glicósido o



15

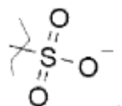
en el que n puede ser 0 a 500.

Los cationes pueden ser, pero sin carácter limitativo, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Al³⁺, Li⁺, Zn²⁺ o Mg²⁺,

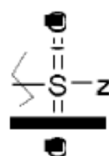


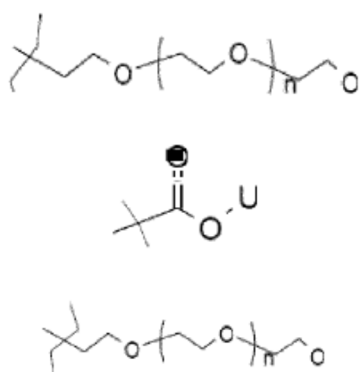
20

en el que por lo menos uno de R1, R2, R3 y R4 es

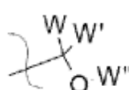


Los cationes pueden ser, pero sin carácter limitativo, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Al³⁺, Li⁺, Zn²⁺ o Mg²⁺,

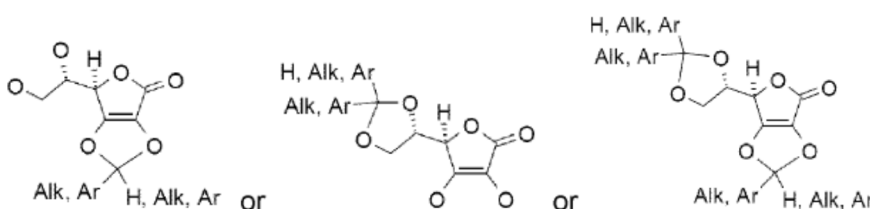
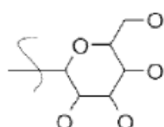




en la que por lo menos uno de R1, R2, R3 y R4 es



un resto carbohidrato, por ejemplo:



5

En ciertas realizaciones el derivado del ácido ascórbico se selecciona del grupo que consiste en ascorbilfosfatos y ascorbilglucósidos o una combinación de estos.

10

En algunas realizaciones el ascorbilfosfato se selecciona del grupo que consiste en ascorbilfosfato sódico (SAP) y ascorbilfosfato magnésico (MAP) o una combinación de estos. Los ascorbilfosfatos se convierten en vitamina C *in vivo* por hidrólisis enzimática por fosfatasas.

En algunas realizaciones, el derivado del ácido ascórbico es un ascorbilfosfato de monoalquilo. En ciertas realizaciones, el derivado del ácido ascórbico es ascorbilfosfato de aminopropilo.

15

En algunas realizaciones, el derivado del ácido ascórbico es un ascorbilglucósido. El ascorbilglucósido se convierte en vitamina C *in vivo* por hidrólisis enzimática por glucosidasas.

20

Los derivados del ácido ascórbico descritos en la presente memoria pueden estar en forma protonada total o parcialmente o en forma no protonada o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. Específicamente, los términos ascorbilsulfato, ascorbilfosfato, ascorbilfosfato de aminoalquilo, ascorbilfosfato de aminopropilo y ascorbilglucósido usados en la presente memoria comprenden los compuestos en forma protonada total o parcialmente o en forma no protonada o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de cationes adecuados incluyen, pero sin carácter limitativo, aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y cinc.

La concentración del derivado del ácido ascórbico puede ser seleccionada por los expertos dependiendo del derivado específico usado del ácido ascórbico.

25

En ciertas realizaciones la concentración del citado derivado del ácido ascórbico está en el intervalo de 0,001 a 15 mg/ml. En ciertas realizaciones la concentración del citado derivado del ácido ascórbico está en el intervalo de 0,001 a 10 mg/ml. En algunas realizaciones la concentración del citado derivado del ácido ascórbico está en el intervalo de 0,01 a 5 mg/ml. Se prefiere una concentración del citado derivado del ácido ascórbico por encima de 0,01 mg/ml porque proporciona una reducción más notable de la viscosidad y del módulo elástico G' de la composición de ácido

hialurónico. Se prefiere una concentración del citado derivado del ácido ascórbico por debajo de 5 mg/ml porque concentraciones mayores originan una disminución innecesaria de la estabilidad de la composición de ácido hialurónico sin ningún beneficio adicional.

5 La concentración requerida del derivado del ácido ascórbico puede variar dentro de los intervalos antes especificados dependiendo del derivado particular usado del ácido ascórbico. Como ejemplo, una concentración adecuada de ascorbilfosfato sódico (SAP) o de ascorbilfosfato magnésico (MAP) puede estar en el intervalo de 0,01 a 1 mg/ml mientras que una concentración adecuada de ascorbilglucósido puede estar en el intervalo de 0,1 a 5 mg/ml.

10 Así, de acuerdo con una realización, el derivado del ácido ascórbico es ascorbilfosfato sódico (SAP) o ascorbilfosfato magnésico (MAP) a una concentración en el intervalo de 0,01 a 1 mg/ml y preferiblemente en el intervalo de 0,01 a 0,5 mg/ml.

De acuerdo con otra realización, el derivado del ácido ascórbico es ascorbilglucósido a una concentración en el intervalo de 0,01 a 1 mg/ml, preferiblemente en el intervalo de 0,01 a 0,8 mg/ml y más preferiblemente en el intervalo de 0,05 a 0,4 mg/ml.

15 Como se ha mencionado, se ha observado que la adición de un derivado del ácido ascórbico no incrementa la estabilidad de la composición de ácido hialurónico. En otras palabras, la composición inyectable de ácido hialurónico de acuerdo con la presente invención no tiene mayor estabilidad que la misma composición sin un derivado del ácido ascórbico.

20 El término "estabilidad" usado en la presente memoria se usa para indicar la capacidad de la composición de ácido hialurónico de resistir degradación durante su almacenamiento y manejo antes de usarla. Es conocido que la adición de constituyentes a un ácido hialurónico o a un gel de ácido hialurónico puede afectar a la estabilidad de los citados ácido hialurónico o gel de ácido hialurónico. La estabilidad del ácido hialurónico o gel de ácido hialurónico puede ser determinada por una serie de diferentes métodos. Métodos para determinar la estabilidad incluyen, pero sin carácter limitativo, evaluación de la homogeneidad, color, transparencia, pH, contenido de gel y propiedades reológicas de la composición. La estabilidad de una composición de ácido hialurónico se determina frecuentemente observando o
25 midiendo uno o más de los citados parámetros a lo largo del tiempo. La estabilidad puede ser determinada, por ejemplo, midiendo la viscosidad y/o el módulo elástico G' de la composición de ácido hialurónico a lo largo del tiempo. La viscosidad se puede medir, por ejemplo, como "viscosidad a cizalladura cero (η_0)" por viscosimetría rotacional usando un reómetro VOR Bohlin (sistema de medición C14 o PP30, abertura 1,0 mm). También se
30 pueden aplicar otros métodos de medición de la viscosidad. El módulo elástico G' se puede medir, por ejemplo, usando un reómetro VOR Bohlin (sistema de medición PP30, abertura 1,0 mm) realizando un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica (LVR) y midiendo después las propiedades viscoelásticas en la LVR. También se pueden aplicar otros métodos de medición del módulo elástico G' .

35 Por lo tanto, se proporciona una composición inyectable de ácido hialurónico que comprende: un gel acuoso de ácido hialurónico que comprende 2 a 50 mg/ml de un ácido hialurónico, 0,5 a 10 mg/ml de lidocaína y 0,01 a 5 mg/ml de un derivado del ácido ascórbico seleccionado del grupo que consiste en ascorbilfosfatos y ascorbilglucósidos o una combinación de estos.

40 En una realización más específica, se proporciona una composición inyectable de ácido hialurónico que comprende: un gel acuoso de ácido hialurónico que comprende 2 a 50 mg/ml de un ácido hialurónico, 0,5 a 10 mg/ml de lidocaína y 0,01 a 5 mg/ml de un ascorbilfosfato, por ejemplo, ascorbilfosfato sódico o magnésico.

En otra realización más específica, se proporciona una composición inyectable de ácido hialurónico que comprende: un gel acuoso de ácido hialurónico que comprende 2 a 50 mg/ml de un ácido hialurónico, 0,5 a 10 mg/ml de lidocaína y 0,01 a 5 mg/ml de un ascorbilglucósido, por ejemplo, ascorbilglucósido.

45 En algunas realizaciones, la composición ha sido sometida a esterilización. En ciertas realizaciones la composición está esterilizada, esto es, la composición ha sido sometida a tratamiento térmico y/o con vapor de agua para esterilizar la composición. En algunas realizaciones la composición ha sido sometida a esterilización por calentamiento en autoclave o esterilización similar por calor o vapor de agua. La esterilización, por ejemplo, calentamiento en un autoclave, se puede realizar hasta a un valor F_0 igual o mayor que 4. El valor F_0 de un proceso de esterilización por vapor de agua saturado es la letalidad expresada como tiempo equivalente en minutos a una
50 temperatura de 121°C aportada por el proceso al producto en su envase final con respecto a microorganismos que poseen un valor Z de 10.

55 Cuando las composiciones de ácido hialurónico se someten a esterilización por tratamiento con calor o vapor de agua, generalmente se reducen la viscosidad y/o el módulo elástico G' . Cuando se añade a la composición de ácido hialurónico un anestésico local del tipo amida o del tipo éster, esta reducción de la viscosidad y/o del módulo elástico G' es menor, originando un producto final más sólido o más viscoso. La adición del derivado del ácido ascórbico contrarresta este efecto del anestésico local, por lo que produce un producto final que tiene una viscosidad y/ un módulo elástico G' más parecidos a los de la composición de ácido hialurónico sin el anestésico local, sin hacer cambios en el componente de ácido hialurónico.

El ácido hialurónico reticulado producido de acuerdo con la invención, o una composición acuosa de éste, puede ser proporcionado en forma de jeringa precargada, esto es, una jeringa que ha sido cargada previamente con una composición de ácido hialurónico reticulado y calentado en un autoclave.

5 Las composiciones inyectables de ácido hialurónico descritas en la presente memoria se pueden emplear en procedimientos tanto médicos como no médicos, por ejemplo, procedimientos puramente cosméticos, por inyección de la composición en tejidos blandos de un sujeto o paciente. Las composiciones han resultado útiles, por ejemplo, en aumento de tejidos blandos, por ejemplo, relleno de arrugas, por inyección de un gel de ácido hialurónico. Las composiciones han resultado especialmente útiles en tratamientos cosméticos, denominados en la presente memoria revitalización de la piel, en los que se inyectan cantidades pequeñas de la composición de ácido hialurónico en la dermis en un número de sitios de inyección distribuidos sobre una superficie de la piel a tratar, originando un tono y elasticidad de la piel mejores. La revitalización de la piel es un procedimiento simple y los riesgos para la salud asociados con el procedimiento son muy bajos. De acuerdo con otros aspectos ilustrados en la presente memoria, se proporciona una composición inyectable de ácido hialurónico como la descrita anteriormente para su uso como medicamento. La composición es útil, por ejemplo, en el tratamiento de diversos trastornos dermatológicos. Particularmente, se proporciona una composición inyectable de ácido hialurónico como la descrita anteriormente para su uso en un tratamiento dermatológico seleccionado del grupo que consiste en cicatrización de heridas, tratamiento de condiciones de piel seca o piel dañada por el sol, tratamiento de trastornos de hiperpigmentación, tratamiento y prevención de la pérdida de cabello y tratamiento de condiciones que tienen inflamación como componente del proceso de una enfermedad, como psoriasis y eccema asteotótico. En otras palabras, se proporciona una composición inyectable de ácido hialurónico como la descrita anteriormente para su uso en la fabricación de un medicamento para uso en un tratamiento dermatológico seleccionado del grupo que consiste en cicatrización de heridas, tratamiento de condiciones de piel seca o piel dañada por el sol, trastornos de hiperpigmentación, tratamiento y prevención de la pérdida de cabello y tratamiento de condiciones que tienen inflamación como componente del proceso de una enfermedad, como psoriasis y eccema asteotótico.

25 De acuerdo con otra realización, se proporciona una composición inyectable de ácido hialurónico como la descrita anteriormente para su uso en el tratamiento de un trastorno de una articulación por inyección intraarticular.

30 De acuerdo con otros aspectos ilustrados en la presente memoria, se proporciona el uso de una composición inyectable de ácido hialurónico como la descrita anteriormente para tratamiento cosmético, no médico, de un sujeto por inyección de la composición en la piel del sujeto. Una finalidad del tratamiento cosmético, no médico, puede ser mejorar la apariencia de la piel, evitar y/o tratar la pérdida de cabello, rellenar arrugas o contornear la cara o cuerpo de un sujeto. El uso cosmético, no médico, no implica tratamiento de cualquier forma de enfermedad o condición médica. Ejemplos de mejoras de la apariencia de la piel incluyen, pero sin carácter limitativo, tratamiento de piel envejecida o dañada por el sol, revitalización de la piel, blanqueamiento de la piel y tratamiento de trastornos de hiperpigmentación, como pecas seniles, melasma y efélides.

35 De acuerdo con ciertas realizaciones, se proporciona el uso cosmético, no médico, de una composición inyectable de ácido hialurónico como la descrita anteriormente para mejorar la apariencia de la piel, evitar y/o tratar la pérdida de cabello, rellenar arrugas o contornear la cara o cuerpo de un sujeto. El uso comprende preferiblemente inyectar la composición en el cutis y/o subcutis de un sujeto humano. El uso de la composición inyectable de ácido hialurónico para mejorar la apariencia de la piel, evitar y/o tratar la pérdida de cabello, rellenar arrugas o contornear la cara o cuerpo de un sujeto es puramente cosmético, no médico.

40 De acuerdo con ciertas realizaciones, se proporciona el uso cosmético, no médico, de una composición inyectable de ácido hialurónico como la descrita anteriormente para mejorar la apariencia de la piel. De acuerdo con una realización preferida, se proporciona el uso de una composición inyectable de ácido hialurónico como la descrita anteriormente para revitalización de la piel.

45 De acuerdo con ciertas realizaciones, se proporciona el uso cosmético, no médico, de una composición inyectable de ácido hialurónico como la descrita anteriormente para evitar y/o tratar la pérdida de cabello.

De acuerdo con ciertas realizaciones, se proporciona el uso cosmético, no médico, de una composición inyectable de ácido hialurónico como la descrita anteriormente para rellenar arrugas o contornear la cara o cuerpo de un sujeto.

50 De acuerdo con otros aspectos ilustrados en la presente memoria, se proporciona un método cosmético, no médico, de mejorar la apariencia de la piel, evitar y/o tratar la pérdida de cabello, rellenar arrugas o contornear la cara o cuerpo de un sujeto, método que comprende:

- (a) proporcionar una composición inyectable de ácido hialurónico como la descrita anteriormente, y
- (b) inyectar la citada composición inyectable de ácido hialurónico en la piel de un sujeto.

En ciertas realizaciones, la composición inyectable de ácido hialurónico se inyecta en el cutis y/o subcutis.

55 De acuerdo con ciertas realizaciones, el método cosmético, no médico, comprende mejorar la apariencia de la piel.

De acuerdo con una realización preferida, el método comprende la revitalización de la piel.

De acuerdo con ciertas realizaciones, el método cosmético, no médico, comprende evitar y/o tratar la pérdida de cabello.

De acuerdo con ciertas realizaciones, el método cosmético, no médico, comprende rellenar arrugas o contorneo la cara o cuerpo de un sujeto.

5 De acuerdo con otros aspectos ilustrados en la presente memoria, se proporciona un método de fabricar una composición de ácido hialurónico, que comprende:

- (a) mezclar un ácido hialurónico, un anestésico local seleccionado del grupo que consiste en anestésicos del tipo amida o del tipo éster o una combinación de estos, y un derivado del ácido ascórbico en una cantidad que evite o reduzca el efecto sobre la viscosidad y/o el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor, y
- 10 (b) someter la mezcla a esterilización por calor.

En el método de fabricación de la composición, el citado derivado del ácido ascórbico es eficaz para evitar o reducir el efecto del anestésico local sobre la viscosidad y/o el módulo elástico G' de la composición debido a la esterilización por calor.

15 Los componentes de la composición, esto es, el ácido hialurónico, el anestésico local y el derivado del ácido ascórbico se pueden definir también como se ha descrito anteriormente para la composición inyectable de ácido hialurónico.

La composición fabricada de ácido hialurónico no tiene mayor estabilidad que la misma composición sin un derivado del ácido ascórbico.

20 En algunas realizaciones, la esterilización de la etapa (b) comprende someter la mezcla a un tratamiento térmico. En ciertas realizaciones, la esterilización de la etapa (b) comprende calentar la mezcla en un autoclave hasta un valor F_0 igual o mayor que 4. La esterilización se puede caracterizar también como se ha descrito anteriormente para la composición.

25 De acuerdo con otros aspectos ilustrados en la presente memoria, se proporciona el uso de un derivado del ácido ascórbico en una composición inyectable de ácido hialurónico, que comprende también un ácido hialurónico y un anestésico local seleccionado del grupo que consiste en anestésicos del tipo amida y anestésicos del tipo éster o una combinación de estos, para evitar o reducir el efecto del anestésico local sobre la viscosidad y/o el módulo elástico G' de la composición debido a la esterilización por calor.

30 Los componentes de la composición se pueden definir también como se ha descrito anteriormente para la composición inyectable de ácido hialurónico. La esterilización se puede definir también como se ha descrito anteriormente.

La composición inyectable de ácido hialurónico formada usando un derivado del ácido ascórbico no tiene mayor estabilidad que la misma composición sin un derivado del ácido ascórbico.

Breve descripción de los dibujos

35 La figura 1 es una gráfica que muestra el efecto de MAP (ascorbilfosfato magnésico) sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína.

La figura 2 es una gráfica que muestra el efecto de MAP sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína.

La figura 3 es una gráfica que muestra el efecto de MAP sobre un ácido hialurónico no reticulado, con lidocaína.

La figura 4 es una gráfica que muestra el efecto de MAP sobre un ácido hialurónico no reticulado, con lidocaína.

40 La figura 5 es una gráfica que muestra el efecto de MAP sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína que ha sido sometido a calentamiento en un autoclave hasta diversos valores de F_0 .

La figura 6 es una gráfica que muestra el efecto de MAP sobre un gel de ácido hialurónico con bupivacaína.

La figura 7 es una gráfica que muestra el efecto de MAP sobre un gel de ácido hialurónico con tetracaína.

45 La figura 8 es una gráfica que muestra el efecto de SAP (ascorbilfosfato sódico) sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína.

La figura 9 es una gráfica que muestra el efecto de asorbato de metilsilanol sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína.

La figura 10 es una gráfica que muestra el efecto de un asorbilglucósido sobre un ácido hialurónico reticulado con bupivacaína.

La figura 11 es una gráfica que muestra el efecto de diferentes concentraciones de SAP sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína.

La figura 12 es una gráfica que muestra el efecto de acetónido del ácido l-ascórbico sobre un gel de ácido hialurónico con tetracaína.

5 La figura 13 es una gráfica que muestra el efecto de SAP sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína.

La figura 14 es una gráfica que muestra el efecto de ascorbilfosfato de aminopropilo sobre un ácido hialurónico no reticulado, con lidocaína.

La figura 15 es una gráfica que muestra el efecto de un ascorbilglucósido sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína.

10 La figura 16 es una gráfica que muestra el efecto de un ascorbilglucósido sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína.

La figura 17 es una gráfica que muestra el efecto de un ascorbilglucósido sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína.

La figura 18 es una gráfica que muestra el efecto de MAP sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína.

15 La figura 19 es una gráfica que muestra el efecto de SAP sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína en un estudio de estabilidad.

La figura 20 es una gráfica que muestra el efecto de un ascorbilglucósido sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína en un estudio de estabilidad.

20 La figura 21 es una gráfica que muestra el efecto de un ascorbilglucósido sobre un gel de ácido hialurónico con lidocaína en un estudio de estabilidad.

Ejemplos

Sin desear estar limitados por ellos, a continuación se ilustrará más la presente invención por medio de ejemplos. Como los polímeros de ácido hialurónico y los geles de ácido hialurónico pueden sufrir siempre variaciones de un lote a otro, se realizó cada ejemplo con un único lote de polímero de ácido hialurónico o gel de ácido hialurónico para obtener resultados comparables. Las ligeras variaciones, por ejemplo, en la viscosidad o propiedades reológicas entre composiciones similares pueden ser debidas a dichas variaciones de un lote a otro.

25 Ejemplo 1: Gel de ácido hialurónico con lidocaína y MAP

En este experimento, se compararon las propiedades reológicas, después del calentamiento en un autoclave, de geles de ácido hialurónico sin aditivos con las de geles de ácido hialurónico a los que se había añadido lidocaína y MAP respectivamente.

30 Se prepararon como se describe a continuación formulaciones que tenían las diversas concentraciones de lidocaína y MAP indicadas en la tabla 1.

Tabla 1

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	MAP (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
1a	20	0	0	239
1b	20	3	0	437
1c	20	3	0,07	394
1d	20	3	0,7	211
1e	20	1	0	440
1f	20	1	0,07	388
1g	20	1	0,7	206

35 HA = ácido hialurónico

5 En todas las formulaciones se usó un gel de ácido hialurónico reticulado con BDDE (1,4-butanodiol diglicidil éter), con un grado de modificación de 1% en moles y un contenido de ácido hialurónico de 20 mg/ml. El grado de modificación (% en moles) mide la cantidad de agente(s) de reticulación unido(s) al ácido hialurónico, esto es, la cantidad molar de agente(s) de reticulación con respecto a la cantidad molar total de unidades repetitivas de disacárido del ácido hialurónico.

El grado de modificación refleja en qué grado ha sido modificado químicamente el ácido hialurónico por el agente de reticulación.

Se puede preparar gel de ácido hialurónico reticulado por BDDE (1,4-butanodiol diglicidil éter), por ejemplo, de acuerdo con el método descrito en los ejemplos 1 y 2 de la solicitud de patente internacional publicada WO 9704012.

10 Se preparó una solución de hidrocloreto de lidocaína monohidrato (número CAS 6106-05-0; Sigma Aldrich, St. Louis, Estados Unidos) disolviendo hidrocloreto de lidocaína monohidrato en agua para inyectables y se preparó una solución de ascorbilfosfato magnésico (MAP) (número CAS 114040-31-2; Nikko Chemicals Co, Japón) disolviendo MAP en solución salina tamponada con fosfato (8 mM; 0,9% de NaCl).

Formulación 1a:

15 Se diluyó el gel de ácido hialurónico a la misma concentración que 1b-1g añadiendo solución salina tamponada con fosfato (8 mM; 0,9% de NaCl).

Formulación 1b:

Se añadió solución de lidocaína al gel de ácido hialurónico hasta una concentración final de 3 mg/ml de gel.

Formulación 1c:

20 Se añadieron la solución de lidocaína y la solución de MAP al gel de ácido hialurónico hasta concentraciones finales de 3 mg de lidocaína/ml y 0,07 mg de MAP/ml de gel.

Las formulaciones 1d-1g se prepararon de la misma manera variando las cantidades de solución de lidocaína y de solución de MAP. A todas las formulaciones se añadió solución salina tamponada con fosfato (8 mM; 0,9% de NaCl) para ajustar la dilución al mismo grado.

25 Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge GEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 30$).

Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30; abertura 1,00 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

30 Los resultados se presentan en la figura 1. El MAP contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor. Cuanto mayor sea la concentración de MAP, mayor es la disminución del módulo elástico G' . Una concentración mayor de lidocaína no afecta al incremento del módulo elástico G' .

Ejemplo 2: Gel de ácido hialurónico con un grado mayor de modificación, con lidocaína y MAP

35 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 2 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con la excepción de que se usó un gel de ácido hialurónico con un grado mayor de modificación (aproximadamente 7%). El gel de ácido hialurónico se preparó, por ejemplo, de acuerdo con el método descrito en los ejemplos de la patente de Estados Unidos 6.921.819 B2.

Tabla 2

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	MAP (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
2a	20	0	0	393
2b	20	3	0	417
2c	20	3	0,3	388

40

Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge GEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 29$).

Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30; abertura 1,00 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

5 Los resultados se presentan en la figura 2. El MAP contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 3: Ácido hialurónico no reticulado, con lidocaína y MAP

Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 3 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con la excepción de que se usó un ácido hialurónico no reticulado con un peso molecular medio de 1×10^6 Da.

10

Tabla 3

Formulación	HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	MAP (mg/ml)	Viscosidad a cizalladura cero (η_0) (Pa.s)
3a	20	0	0	3,83
3b	20	3	0	4,26
3c	20	3	0,07	2,45
3d	20	3	0,3	1,98

Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge GEV 10 ERC-1 ($F_0 \sim 22$).

15

Se estudió la viscosidad de las formulaciones usando viscosimetría rotacional usando un reómetro VOR Bohlin (sistema de medida PP30; abertura 1,00 mm).

Los resultados se presentan en la figura 3. El MAP contrarresta el efecto sobre la viscosidad de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 4: Ácido hialurónico no reticulado, con lidocaína y MAP a concentraciones menores

20

Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 4 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 3, con la excepción de que se usaron concentraciones menores de MAP.

Tabla 4

Formulación	HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	MAP (mg/ml)	Viscosidad a cizalladura cero (η_0) (Pa.s)
4a	20	0	0	5,13
4b	20	3	0	6,16
4c	20	3	0,03	5,27
4d	20	3	0,01	5,87
4e	20	3	0,005	5,91

Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge GEV 10 ERC-1 ($F_0 \sim 22$).

25

Se estudió la viscosidad de las formulaciones usando viscosimetría rotacional usando un reómetro VOR Bohlin (sistema de medida PP30; abertura 1,00 mm).

Los resultados se presentan en la figura 4. El MAP contrarresta el efecto sobre la viscosidad de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

30

Ejemplo 5: Gel de ácido hialurónico no reticulado, con lidocaína y MAP, sometido a calentamiento en un autoclave hasta diferentes valores de F_0

Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 5 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con la excepción de que se usó una concentración diferente de MAP.

Tabla 5

Formulación	HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	MAP (mg/ml)	F ₀ medio	G' a 1,0 Hz (Pa)
5a	20	0	0	22	194
5b	20	3	0	22	269
5c	20	3	0,3	22	220
5d	20	0	0	6	317
5e	20	3	0	6	363
5f	20	3	0,3	6	332

5 Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge GEV 6610 ERC-1 hasta los diferentes valores de F₀ descritos en la tabla 5.

Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30, abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica lineal (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

10 Los resultados se presentan en la figura 5. El efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor es ligeramente mayor para el valor mayor de F₀. El MAP contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 6: Gel de ácido hialurónico con bupivacaína y MAP

15 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 6 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con la excepción de que la lidocaína fue reemplazada por bupivacaína (número CAS 2180-92-9; Cambrex, Kariskoga, Suecia) y que se usó un gel de ácido hialurónico con un grado de modificación <1% y con un contenido de ácido hialurónico de 12 mg/ml.

Tabla 6

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Bupivacaína (mg/ml)	MAP (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
6a	12	0	0	62
6b	12	1	0	90
6c	12	1	0,3	61

20 Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge GEV 6610 ERC-1 (F₀ ~22).

Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30, abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica lineal (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

25 Los resultados se presentan en la figura 6. La bupivacaína tiene un efecto similar al de la lidocaína sobre el módulo elástico G' de la composición. El MAP contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 7: Gel de ácido hialurónico con tetracaína y MAP

30 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 7 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con la excepción de que la lidocaína fue reemplazada por tetracaína (número CAS 136-47-0; Sigma Aldrich, St. Louis, Estados Unidos) y que la concentración de MAP fue 0,3 mg/ml.

Tabla 7

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Tetracaína (mg/ml)	MAP (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
7a	20	0	0	154
7b	20	3	0	237
7c	20	3	0,3	196

Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se sometieron a calentamiento en un autoclave Getinge GEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 22$).

5 Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30, abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica lineal (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

10 Los resultados se presentan en la figura 7. La tetracaína tiene un efecto similar al de la lidocaína sobre el módulo elástico G' de la composición. El MAP contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 8: Gel de ácido hialurónico con lidocaína y SAP

Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 8 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con la excepción de que el ascorbilfosfato magnésico fue reemplazado por ascorbilfosfato sódico (SAP).

15 Se preparó una solución de SAP (número CAS 66170-10-3; Sigma Aldrich, St. Louis, Estados Unidos) disolviendo SAP en solución salina tamponada con fosfato (8 mM; 0,9% de NaCl).

Tabla 8

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	SAP (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
8a	20	0	0	285
8b	20	3	0	430
8c	20	3	0,07	374

Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge GEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 29$).

20 Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30; abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica lineal (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

Los resultados se presentan en la figura 8. El SAP contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

25 Ejemplo 9: Gel de ácido hialurónico con lidocaína y ascorbato de metilsilanol (no es parte de la invención)

Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 9 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con las excepciones de que el ascorbilfosfato magnésico (MAP) fue reemplazado por ascorbosilano C (producto número 078; Exsymol, Múnaco) que contiene ascorbato de metilsilanol (número CAS 187991-39-5).

Tabla 9

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	Ascorbato de metilsilanol (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
9a	20	0	0	194
0b	20	3	0	269
9c	20	3	0,3	134

30

Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge GEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 22$).

5 Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30, abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica lineal (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

Los resultados se presentan en la figura 9. El ascorbato de metilsilanol contrarresta eficazmente el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 10: Ácido hialurónico no reticulado, con bupivacaína y ascorbilglucósido

10 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 10 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 3, con la excepción de que la lidocaína fue reemplazada por bupivacaína y el MAP fue reemplazado por ascorbilglucósido (número CAS 129499-78-1; CarboMer Inc., San Diego, Estados Unidos).

Tabla 10

Formulación	HA (mg/ml)	Bupivacaína (mg/ml)	Ascorbilglucósido (mg/ml)	Viscosidad a cizalladura cero (η_0) (Pa.s)
10 ^a	20	0	0	1,79
10b	20	1	0	2,34
10c	20	1	5	2,11

15 Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge GEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 22$).

Se estudió la viscosidad de las formulaciones usando viscosimetría rotacional usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición C14).

20 Los resultados se presentan en la figura 10. El ascorbilglucósido contrarresta el efecto sobre la viscosidad de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 11: Gel de ácido hialurónico con lidocaína y diferentes concentraciones de SAP

Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 11 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 8, con la excepción de que se usaron diferentes concentraciones de ascorbilfosfato sódico (SAP).

Tabla 11

Formulación	HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	SAP (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
11a	20	0	0	159
11b	20	3	0	290
11c	20	3	0,005	287
11d	20	3	0,1	256
11e	20	3	0,5	175

25 Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge GEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 22$).

30 Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30, abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica lineal (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

Los resultados se presentan en la figura 11. El SAP contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor. Cuanto mayor sea la concentración de SAP, mayor es el efecto.

Ejemplo 12: Gel de ácido hialurónico con tetracaína y acetónido del ácido l-ascórbico (no es parte de la invención)

- 5 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 12 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 7, con las excepciones de que el MAP fue reemplazado por acetónido del ácido l-ascórbico (número CAS 15042-01-0; Carbosynth, Berkshire, Reino Unido) y se usó una concentración mayor del derivado.

Tabla 12

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Tetracaína (mg/ml)	Acetónido del ácido l-ascórbico (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
12a	20	0	0	266
12b	20	3	0	345
12c	20	3	1,0	25

- 10 Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge CEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 5$).

Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30, abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica lineal (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

- 15 Los resultados se presentan en la figura 12. El acetónido del ácido l-ascórbico contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 13: Gel de ácido hialurónico con un grado mayor de modificación, con lidocaína y SAP

- 20 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 13 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con las excepciones de que se usó un gel de ácido hialurónico con un grado mayor de modificación (aproximadamente 7%), que el ascorbilfosfato magnésico (MAP) fue reemplazado por ascorbilfosfato sódico (SAP) (número CAS 66170-10-3; Sigma Aldrich, St. Louis, Estados Unidos) y que se usó otra concentración del derivado.

Tabla 13

Formulación	Gel de HS (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	SAP (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
13a	20	0	0	1.110
13b	20	3	0	1.260
13c	20	3	0,1	1.150

- 25 Se ajustó el pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge CEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 32$).

Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30, abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica lineal (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

- 30 Los resultados se presentan en la figura 13. El SAP contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 14: Ácido hialurónico no reticulado, con lidocaína y ascorbilfosfato de aminopropilo

Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 14 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 3, con las excepciones de que el ascorbilfosfato magnésico (MAP) fue reemplazado por ascorbilfosfato de aminopropilo (Macro Care, Corea del Sur) y de que se usó una concentración mayor del derivado.

5

Tabla 14

Formulación	HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	Ascorbilfosfato de aminopropilo (mg/ml)	Viscosidad a cizalladura cero (η_0) (Pa.s)
14a	20	0	0	2,29
14	20	3	0	3,45
14c	20	3	1,5	1,76

Se ajustó el valor del pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge CEV ERC-1 ($F_0 \sim 22$).

10

Se estudió la viscosidad de las formulaciones usando viscosimetría rotacional usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30; abertura 1,0 mm).

Los resultados se presentan en la figura 14. El ascorbilfosfato de aminopropilo contrarresta eficazmente el efecto sobre la viscosidad de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 15: Gel de ácido hialurónico con lidocaína y ascorbilglucósido

15

Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 15 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con las excepciones de que el ascorbilfosfato magnésico (MAP) fue reemplazado por ascorbilglucósido (CarboMer Inc., San Diego, Estados Unidos) y de que se usó otra concentración del derivado.

Tabla 15

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	Ascorbilglucósido (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
15a	20	3	0	833
15b	20	3	0,08	777

20

Se ajustó el valor del pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge CEV ERC-1 ($F_0 \sim 23$).

Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30; abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

25

Los resultados se presentan en la figura 15. El ascorbilglucósido contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 16: Gel de ácido hialurónico con lidocaína y ascorbilglucósido

Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 16 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 15, con las excepciones de que se usó un gel de ácido hialurónico con un grado de modificación menor que 1% y con un contenido de 12 mg/ml y de que se usó una concentración mayor del derivado.

30

Tabla 16

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	Ascorbilglucósido (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
16a	12	3	0	84
16b	12	3	0,17	80

Se ajustó el valor del pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge CEV ERC-1 ($F_0 \sim 23$).

5 Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30; abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica lineal (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

Los resultados se presentan en la figura 16. El ascorbilglucósido contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 17: Gel de ácido hialurónico con lidocaína y ascorbilglucósido

10 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 17 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 15, con las excepciones de que se usó ascorbil glucósido de otro fabricante (Hayashibara Biomedical Laboratories Inc., Okayama, Japón) y de que se usaron concentraciones mayores del derivado. En este ejemplo se usó un gel de ácido hialurónico con un contenido de ácido hialurónico de 16 mg/ml.

Tabla 17

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	Ascorbilglucósido (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)
17a	16	3	0	330
17b	16	3	0	314
17c	16	3	1,5	301

15

Se ajustó el valor del pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge CEV ERC-1 ($F_0 \sim 23$).

20 Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30; abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

Los resultados se presentan en la figura 17. El ascorbilglucósido contrarresta el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor.

Ejemplo 18: Geles de ácido hialurónico con diferentes grados de modificación, con lidocaína y MAP

25 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 18 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con la excepción de que se usó otra concentración de MAP. En este ejemplo se usaron geles de ácido hialurónico con diferentes grados de modificación.

Tabla 18

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Grado de modificación (% moles)	Lidocaína (mg/ml)	MAP (mg/ml)	G' a 1,0 Hz (Pa)	Reducción en G' (%)
18a	20	<1	3	0	66	-
18b	20	<1	3	0,3	38	43
18c	20	1	3	0	269	-
18d	20	1	3	0,3	220	18
18e	20	7	3	0	417	-
18f	20	7	3	0,3	388	7

30 Se ajustó el valor del pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Getinge CEV ERC-1 ($F_0 \sim 22$).

Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30; abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

5 Los resultados se presentan en la figura 18. El MAP contrarresta eficazmente el efecto sobre el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras la esterilización por calor. El efecto es más pronunciado con las formulaciones con menor grado de modificación.

Ejemplo 19: Estudio de la estabilidad de un gel de ácido hialurónico con un grado mayor de modificación, con lidocaína y SAP durante 14 días a 60°C

10 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 19 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 2, con las excepciones de que el ascorbilfosfato magnésico (MAP) fue reemplazado por ascorbilfosfato sódico (SAP) y de que se usó una concentración menor del derivado.

Tabla 19

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	SAP (mg/ml)
19a	20	0	0
19b	20	3	0
19c	20	3	0,1

15 Se ajustó el valor del pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y las formulaciones se cargaron en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Gellinge GEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 32$).

Se realizó un estudio de la estabilidad a 60°C durante 14 días tomando muestras a los 0, 3, 7, 11 y 14 días.

Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30; abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

20 Los resultados se presentan en la figura 19. El SAP no incrementó la estabilidad de la composición. La velocidad de degradación de la composición con SAP se corresponde con la velocidad de degradación con SAP.

Ejemplo 20: Estudio de la estabilidad de un gel de ácido hialurónico con lidocaína y ascorbilglucósido durante 14 días a 60°C

25 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 20 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con las excepciones de que el ascorbilfosfato magnésico (MAP) fue reemplazado por ascorbilglucósido (CarboMer Inc., San Diego, Estados Unidos) y de que se usó otra concentración del derivado,

Tabla 20

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	Ascorbilglucósido (mg/ml)
20a	20	3	0
20b	20	3	0,17

30 Se ajustó el valor del pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en una jeringa de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Gellinge GEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 22$).

Se realizó un estudio de la estabilidad a 60°C durante 14 días tomando muestras a los 0, 7 y 14 días.

35 Se determinó el contenido de gel añadiendo un exceso de solución salina a una cantidad conocida de la preparación y dispersando perfectamente el gel para formar una suspensión diluida. Se filtró la suspensión diluida del gel a través de un filtro de 0,22 mm y se determinó la "parte extraíble" usando el método del carbazol. Se calculó el contenido de gel como la fracción de ácido hialurónico presente en el filtro que no puede pasar a través del filtro de 0,22 mm cuando se filtra la suspensión diluida del producto.

Los resultados se presentan en la figura 20. No hay cambio en la estabilidad de la composición con ascorbilglucósido en comparación con la formulación sin ascorbilglucósido.

Ejemplo 21: Estudio de la estabilidad de un gel de ácido hialurónico con lidocaína, MAP o ascorbilglucósido durante 14 días a 60°C

5 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 21 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con las excepciones de que se usaron MAP o ascorbilglucósido (CarboMer Inc., San Diego, Estados Unidos) y de que se usó un gel de ácido hialurónico con un grado de modificación menor que 1% y con un contenido de ácido hialurónico de 12 mg/ml.

Tabla 21

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	MAP (mg/ml)	Ascorbilglucósido (mg/ml)
21a	12	3	0	0
21b	12	3	0,07	0
21c	12	3	0	0,07

10 Se ajustó el valor del pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y se cargaron las formulaciones en una jeringa de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Geringe GEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 26$).

Se realizó un estudio de la estabilidad a 60°C durante 14 días tomando muestras a los 0, 3, 7, 11 y 14 días.

Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30; abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

15 Los resultados se presentan en la figura 21. El ascorbilglucósido no afecta a la estabilidad de la composición. Se observa una ligera disminución de la estabilidad en la composición con MAP. Sin embargo, los autores de la presente invención han encontrado que la estabilidad de las composiciones es todavía aceptable y que las ventajas asociadas añadiendo el derivado del ácido ascórbico pesa más que la ligera disminución de la estabilidad originada por la adición.

20 Ejemplo 22: Estudio de la estabilidad del gel de ácido hialurónico con lidocaína y ascorbilglucósido durante 16 horas a 90°C

25 Se prepararon las formulaciones indicadas en la tabla 22 esencialmente de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1, con las excepciones de que el ascorbilfosfato magnésico (MAP) fue reemplazado por ascorbilglucósido (Hayashibara Biochemical Laboratories Inc., Okayama, Japón) y de que se usó un ácido hialurónico con un contenido de 16 mg/ml.

Tabla 22

Formulación	Gel de HA (mg/ml)	Lidocaína (mg/ml)	Ascorbilglucósido (mg/ml)
22a	16	3	0
22b	16	3	0,17
22c	16	3	8,0

Se ajustó el valor del pH de las formulaciones a $7,5 \pm 0,2$ y las formulaciones se cargaron en jeringas de vidrio de 1 ml (BD Hypak SCF) y se calentaron en un autoclave Geringe GEV 6610 ERC-1 ($F_0 \sim 26$).

30 Se realizó un estudio de la estabilidad a 90°C durante 16 horas tomando muestras a las 0, 8 y 16 horas.

Se analizaron las propiedades reológicas de las formulaciones usando un reómetro Bohlin VOR (sistema de medición PP30; abertura 1,0 mm). Se hizo inicialmente un barrido de la tensión para encontrar la región viscoelástica (LVR) y se midieron después las propiedades viscoelásticas en la LVR.

35 Los resultados se presentan en la figura 22. El ascorbilglucósido a la concentración menor no afecta a la estabilidad de la composición. La concentración mayor de ascorbilglucósido disminuye la estabilidad de la composición. De estos resultados se concluye que es preferible una concentración de ascorbilglucósido por debajo de 5 mg/ml, porque concentraciones mayores originan una disminución innecesaria de la estabilidad de la composición de ácido hialurónico.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un derivado del ácido ascórbico seleccionado del grupo que consiste en ascorbilfosfatos, ascorbilsulfatos y ascorbilglicósidos, en una composición inyectable de ácido hialurónico que comprende además:

– un gel de ácido hialurónico y

5 – una concentración terapéuticamente relevante de un anestésico local seleccionado del grupo que consiste en anestésicos locales del tipo amida y del tipo éster o una combinación de estos,

para prevenir o reducir el efecto del anestésico local sobre la viscosidad y/o el módulo elástico G' de la composición debido a esterilización por calor,

10 en el que la concentración del citado derivado del ácido ascórbico en la composición está en el intervalo de 0,01 a 5 mg/ml.

2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la composición de ácido hialurónico no exhibe mayor estabilidad que la misma composición sin un derivado del ácido ascórbico.

3. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el citado anestésico local es lidocaína, preferiblemente a una concentración en el intervalo de 1 a 5 mg/ml.

15 4. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el citado derivado del ácido ascórbico se selecciona del grupo que consiste en ascorbilfosfatos y ascorbilglicósidos o una combinación de estos, preferiblemente un ascorbilglicósido, más preferiblemente ascorbilglucósido.

5. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la concentración del derivado del ácido ascórbico está en el intervalo de 0,01 a 0,5 mg/ml.

20 6. Uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el derivado del ácido ascórbico se selecciona del grupo que consiste en ascorbilfosfato sódico (SAP) y ascorbilfosfato magnésico (MAP) y la concentración de los citados ascorbilfosfato sódico (SAP) o ascorbilfosfato magnésico (MAP) está en el intervalo de 0,01 a 1 mg/ml, preferiblemente en el intervalo de 0,01 a 0,5 mg/ml.

25 7. Uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el citado derivado del ácido ascórbico es ascorbilglucósido y la concentración del citado ascorbilglucósido está en el intervalo de 0,01 a 1 mg/ml, preferiblemente en el intervalo de 0,01 a 0,8 mg/ml, más preferiblemente en el intervalo de 0,05 a 0,4 mg/ml.

8. Una composición inyectable de esterilizada de ácido hialurónico que comprende:

– un gel de ácido hialurónico,

30 – una concentración terapéuticamente relevante de un anestésico local seleccionado de anestésicos locales del tipo amida o del tipo éster o una combinación de estos, y

35 – un derivado del ácido ascórbico seleccionado del grupo que consiste en ascorbilfosfatos, ascorbilsulfatos y ascorbilglicósidos, en una cantidad que evite o reduzca el efecto sobre la viscosidad y/o el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras esterilización por calor, en el que la concentración del derivado del ácido ascórbico en la composición está en el intervalo de 0,01 a 5 mg/ml, y la composición ha sido sometida a esterilización calentándola en un autoclave hasta un valor F_0 igual o mayor que 4,

9. Una composición inyectable esterilizada de ácido hialurónico de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la citada composición no exhibe mayor estabilidad que la misma composición sin un derivado del ácido ascórbico.

40 10. Una composición inyectable esterilizada de ácido hialurónico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9, en la que la citada composición no exhibe mayor estabilidad que la misma composición sin un derivado del ácido ascórbico.

45 11. Una composición inyectable esterilizada de ácido hialurónico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en la que el citado derivado del ácido ascórbico se selecciona del grupo que consiste en ascorbilfosfatos, ascorbilsulfaos y ascorbilglicósidos o una combinación de estos, preferiblemente un ascorbilglicósido, más preferiblemente ascorbilglucósido.

12. Una composición inyectable esterilizada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en la que la concentración del citado derivado del ácido ascórbico está en el intervalo de 0,01 a 0,5 mg/ml.

13. Una composición inyectable esterilizada de ácido hialurónico de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el citado derivado del ácido ascórbico se selecciona del grupo que consiste en ascorbilsulfato sódico (SAP) y

ascorbilfosfato magnésico (MAP) y la concentración de los citados ascorbilfosfato sódico o ascorbilfosfato magnésico está en el intervalo de 0,01 a 1 mg/ml, preferiblemente en el intervalo de 0,01 a 0,5 mg/ml.

5 14. Una composición inyectable esterilizada de ácido hialurónico de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el citado derivado del ácido ascórbico es ascorbilglucósido y la concentración del citado ascorbilglucósido está en el intervalo de 0,01 a 1 mg/ml, preferiblemente en el intervalo de 0,01 a 0,8 mg/ml, más preferiblemente en el intervalo de 0,05 a 0,4 mg/ml.

15. Una composición inyectable esterilizada de ácido hialurónico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-14 para uso como medicamento.

10 16. Una composición inyectable esterilizada de ácido hialurónico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-14 para uso en un tratamiento dermatológico seleccionado del grupo que consiste en cicatrización de heridas, tratamiento de condiciones de piel seca y piel dañada por el sol, tratamiento de trastornos de hiperpigmentación, tratamiento y prevención de la pérdida de cabello y tratamiento de condiciones que tienen inflamación como componente del proceso de la enfermedad, como psoriasis y eccema asteotótico.

15 17. Una composición inyectable esterilizada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-14 para uso en el tratamiento de trastornos de las articulaciones por inyección intraarticular.

18. Uso cosmético, no médico, de una composición inyectable esterilizada de ácido hialurónico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-14 para mejorar la apariencia de la piel, prevenir y/o tratar la pérdida de cabello, rellenar arrugas o contornear la cara o cuerpo de un sujeto.

19. Uso cosmético, no médico, de acuerdo con la reivindicación 18, para mejorar la piel de un sujeto.

20 20. Uso cosmético, no médico, de acuerdo con la reivindicación 18, para rellenar arrugas de un sujeto.

21. Uso cosmético, no médico, para mejorar la apariencia de la piel, prevenir y/o tratar la pérdida de cabello, rellenar arrugas o contornear la cara o cuerpo de un sujeto, que comprende:

(a) proporcionar una composición inyectable estéril de ácido hialurónico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-12, y

25 (b) inyectar la citada composición inyectable estéril de ácido hialurónico en la piel de un sujeto.

22. Un método de acuerdo con la reivindicación 21, en el que la citada composición inyectable estéril de ácido hialurónico se inyecta en el cutis y/o subcutis.

23. Un método de fabricar una composición inyectable estéril de ácido hialurónico, que comprende:

30 (a) mezclar un gel de ácido hialurónico, una concentración terapéuticamente relevante de un anestésico local seleccionado del grupo que consiste en anestésicos locales del tipo amida y del tipo éster o una combinación de los estos, y un derivado del ácido ascórbico seleccionado del grupo que consiste en ascorbilfosfatos, ascorbilsulfatos y ascorbilglucósidos, en una cantidad que evite o reduzca el efecto sobre la viscosidad y/o el módulo elástico G' de la composición originado por el anestésico local tras esterilización por calor, en el que la concentración del citado derivado del ácido ascórbico en la composición está en el intervalo de 0,01 a 5 mg/ml, y

35

(b) someter la mezcla a esterilización en un autoclave hasta un valor F_0 igual o mayor que 4.

24. Un método de acuerdo con la reivindicación 23, en el que la composición formada de ácido hialurónico no exhibe mayor estabilidad que la misma composición sin un derivado del ácido ascórbico.

40

Fig. 1

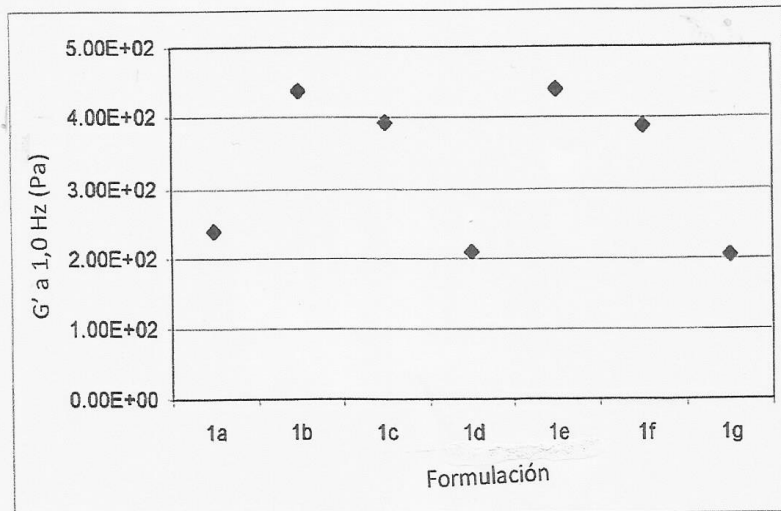


Fig. 2

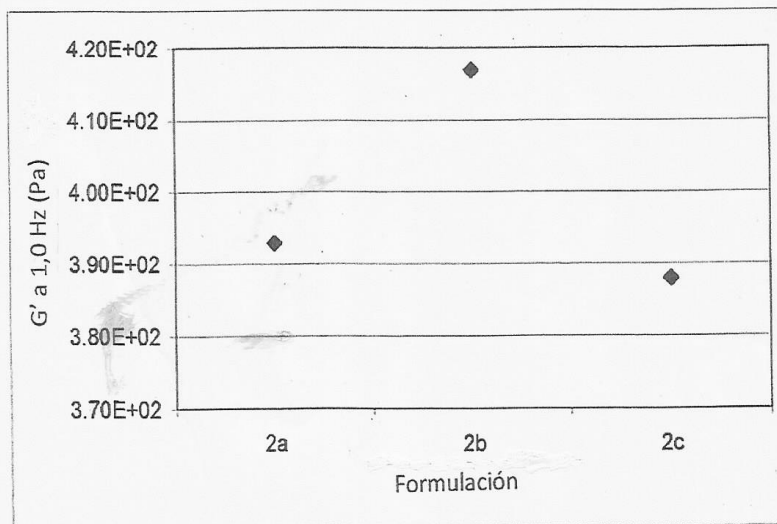


Fig. 3

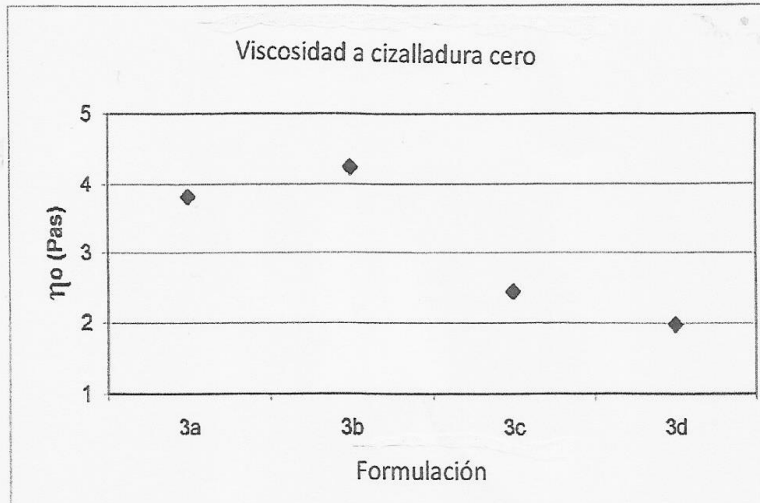


Fig. 4

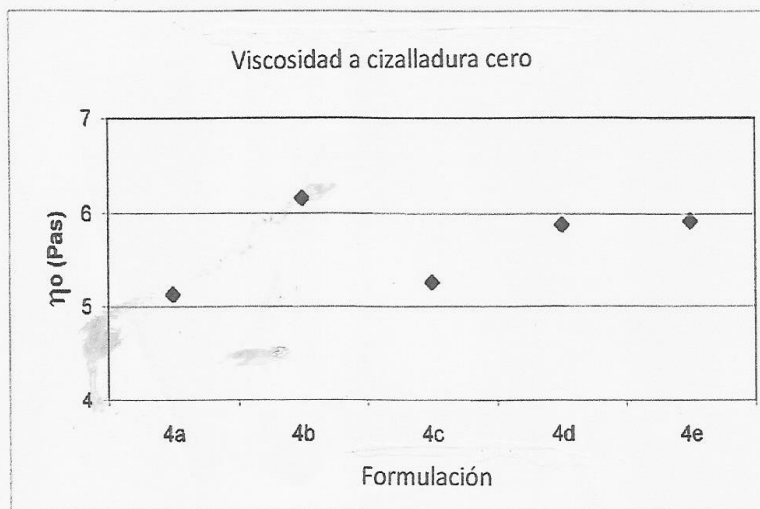


Fig. 5

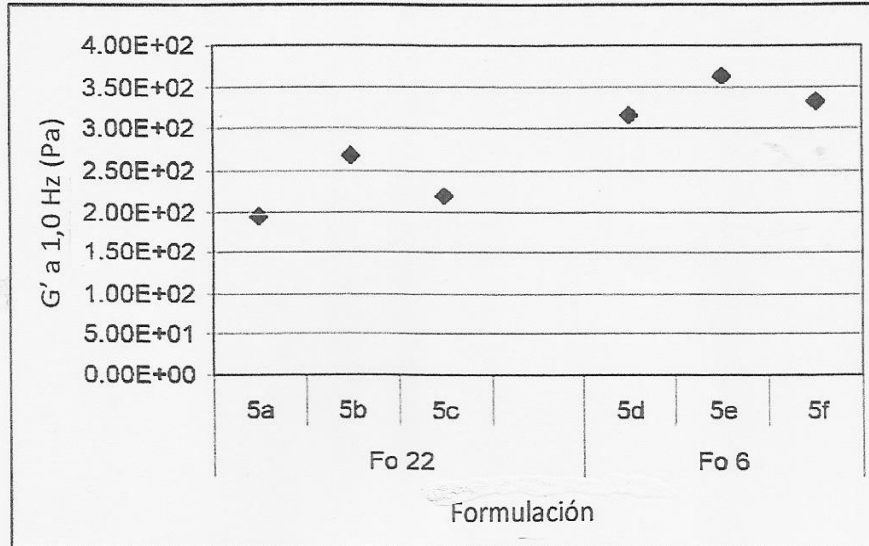


Fig. 6

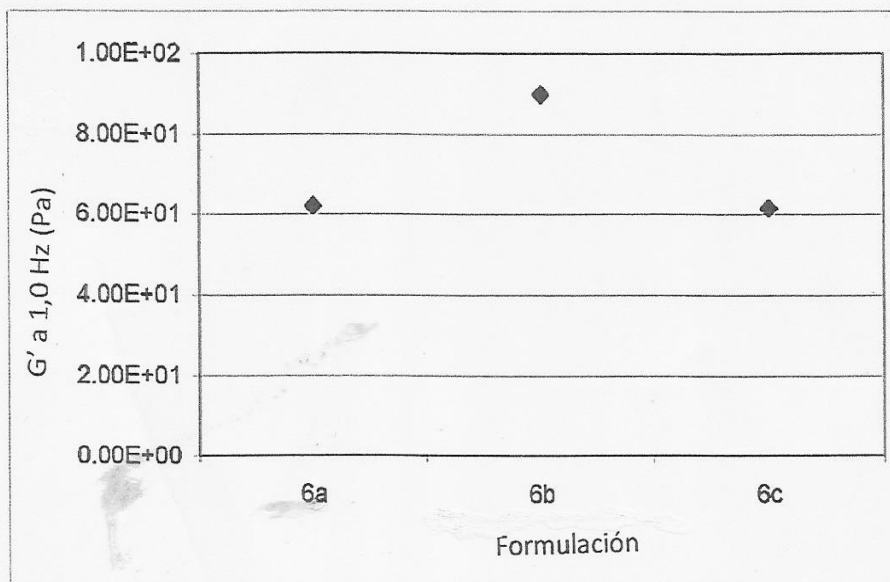


Fig. 7

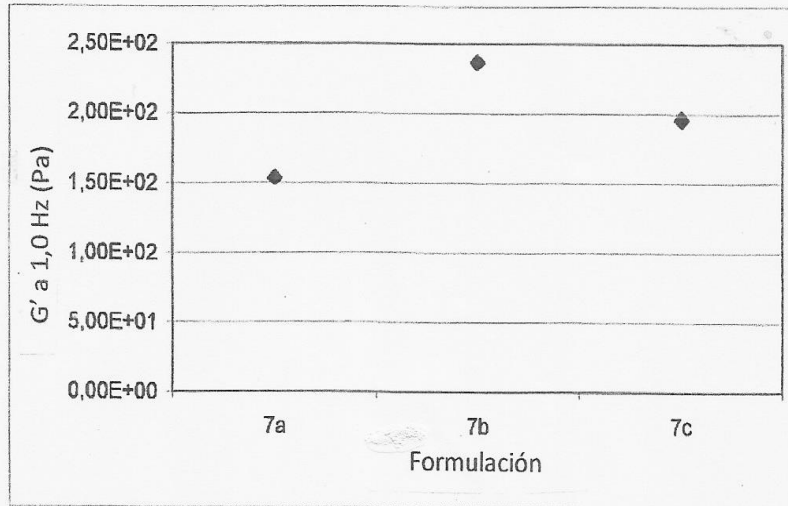


Fig. 8

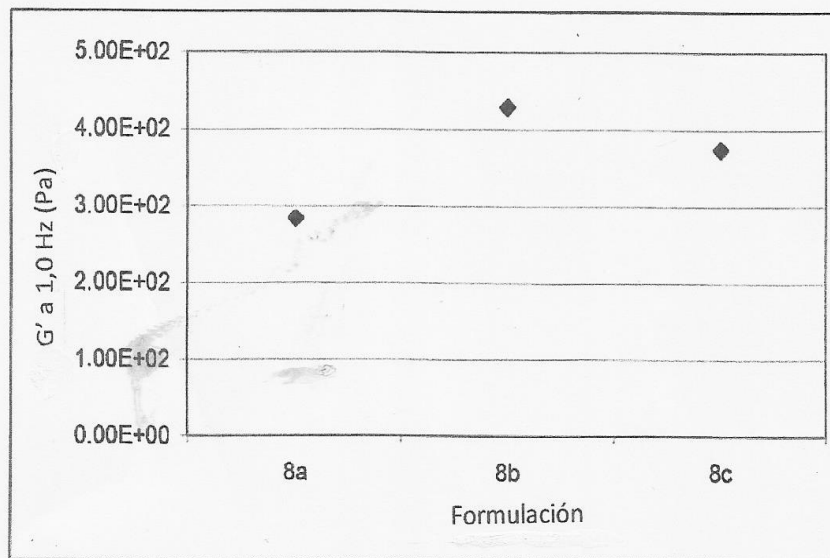


Fig. 9

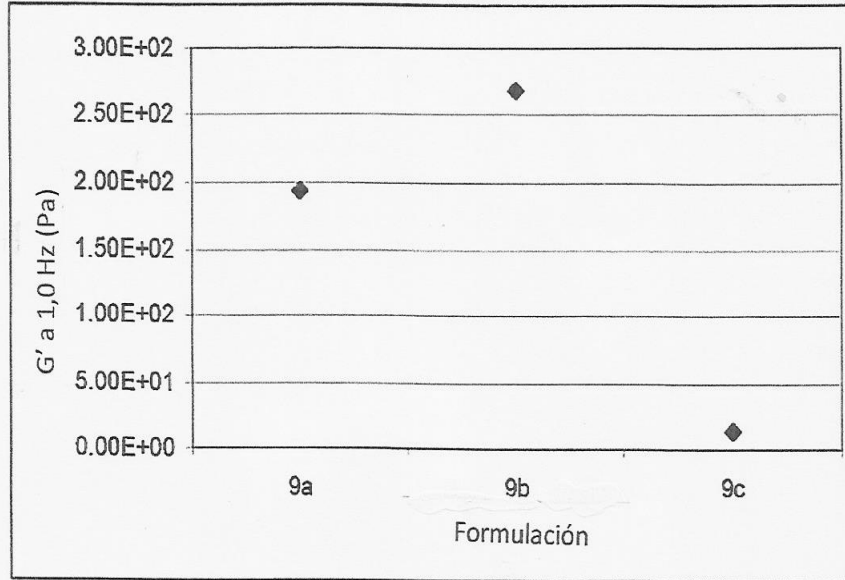


Fig. 10

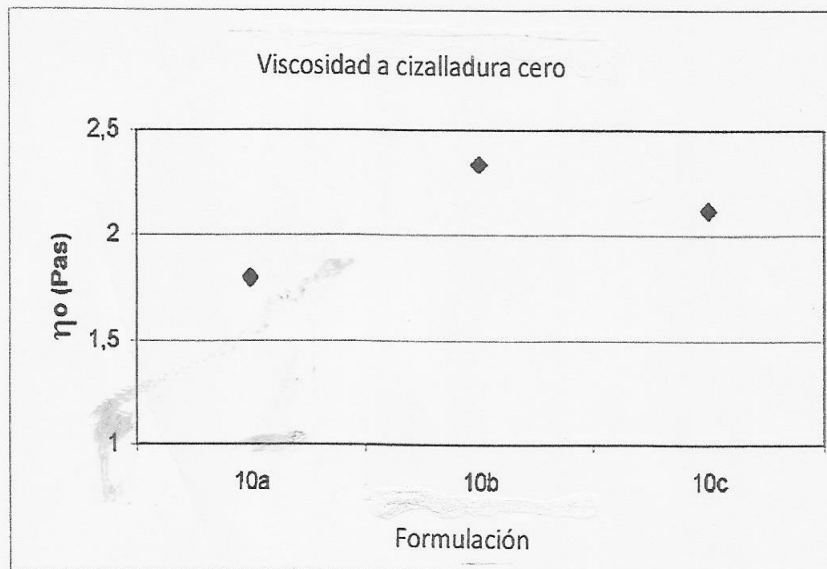


Fig. 11

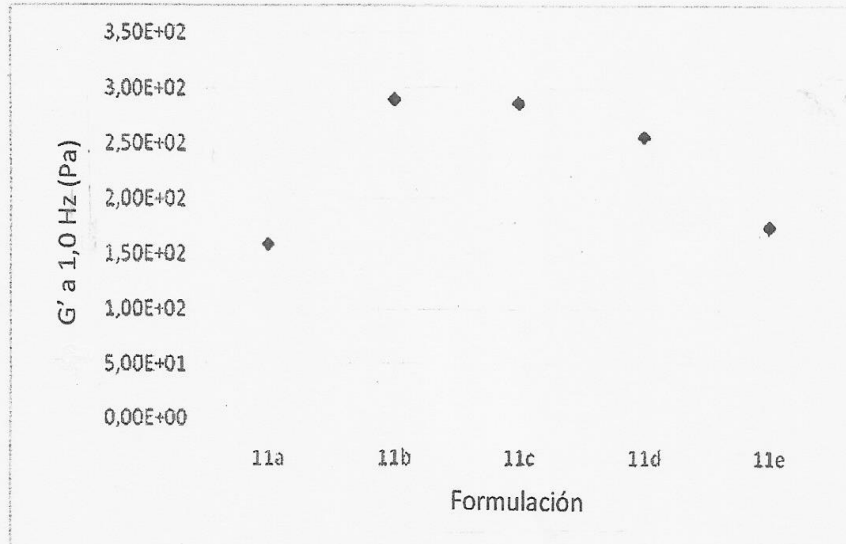


Fig. 12

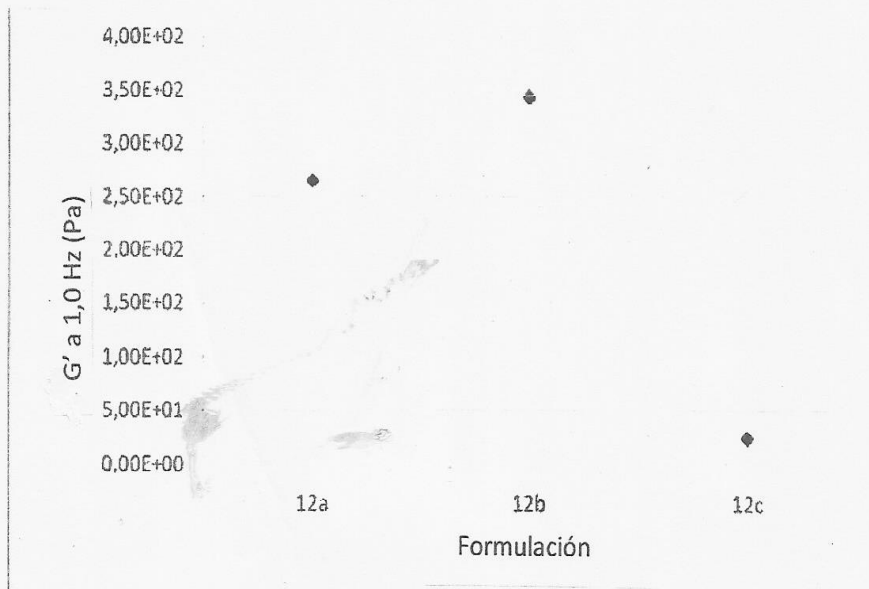


Fig. 13

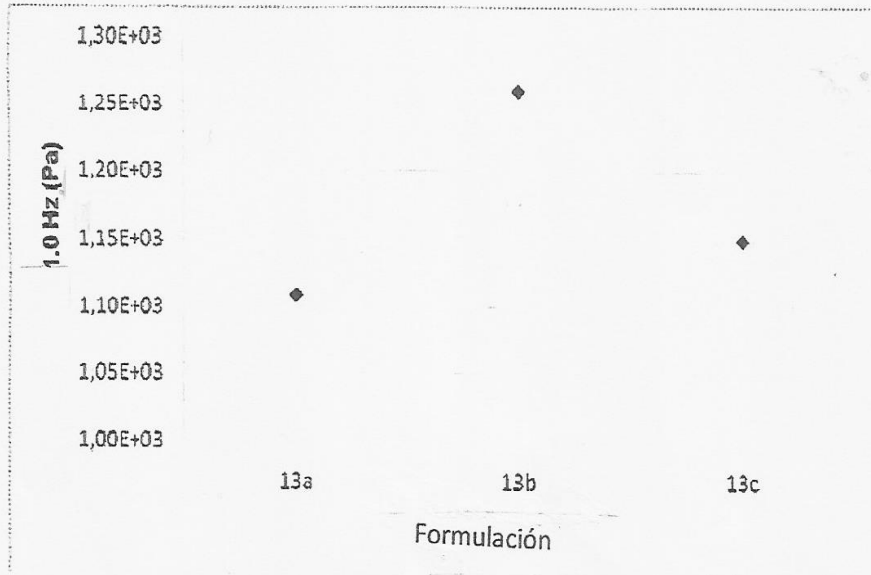


Fig. 14

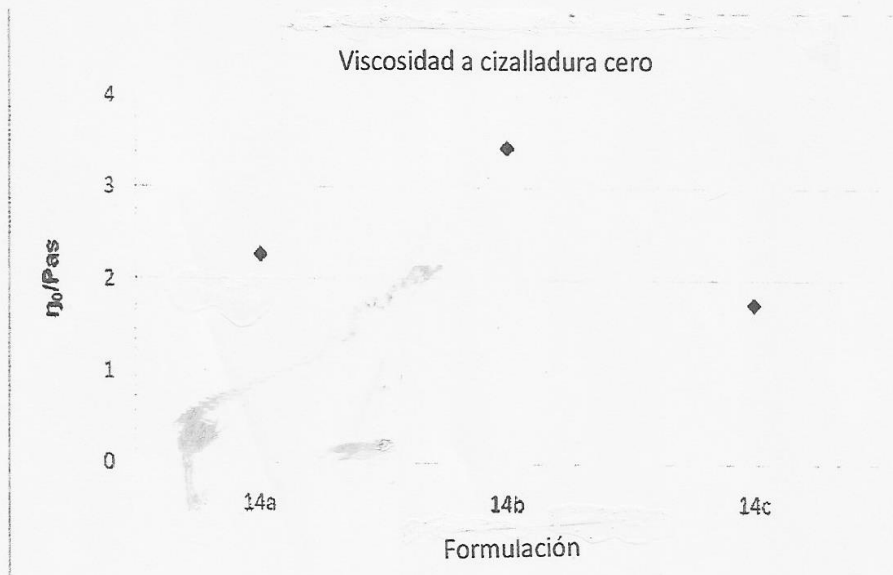


Fig. 15

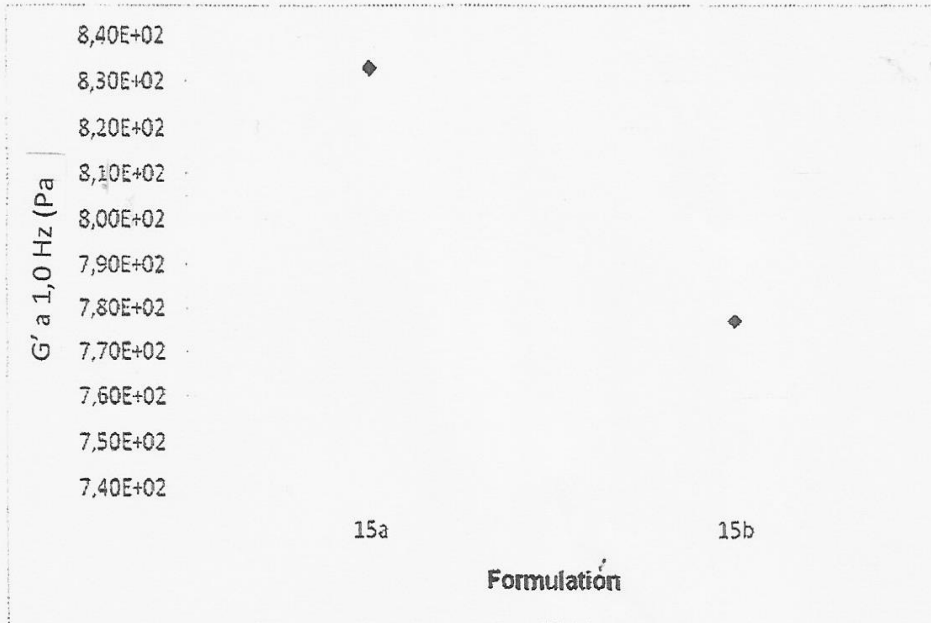


Fig. 16

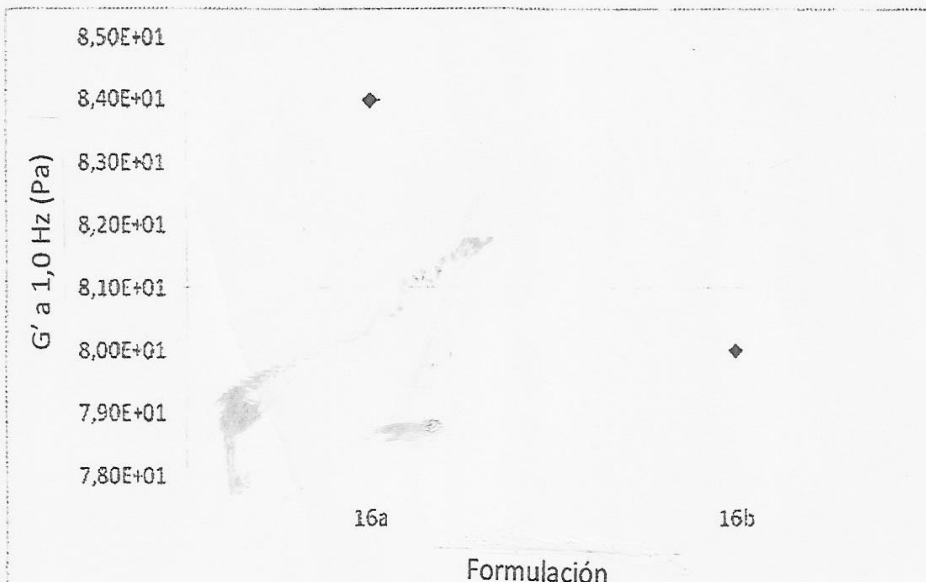


Fig. 17

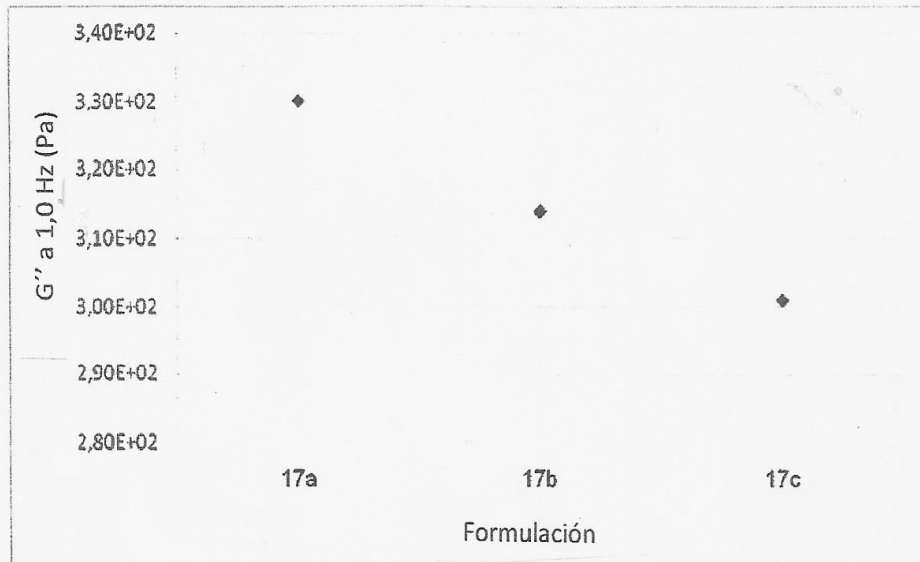


Fig. 18

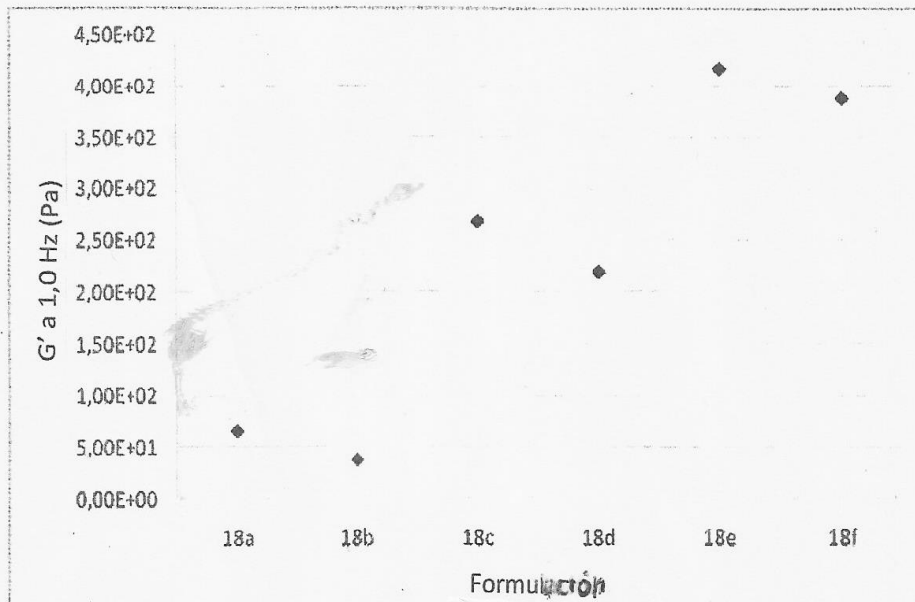


Fig. 19

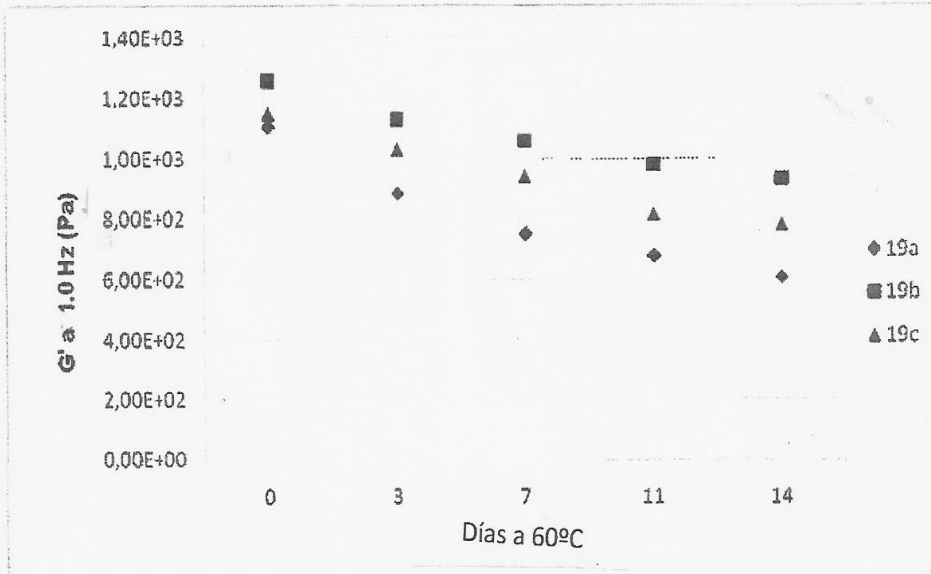


Fig. 20

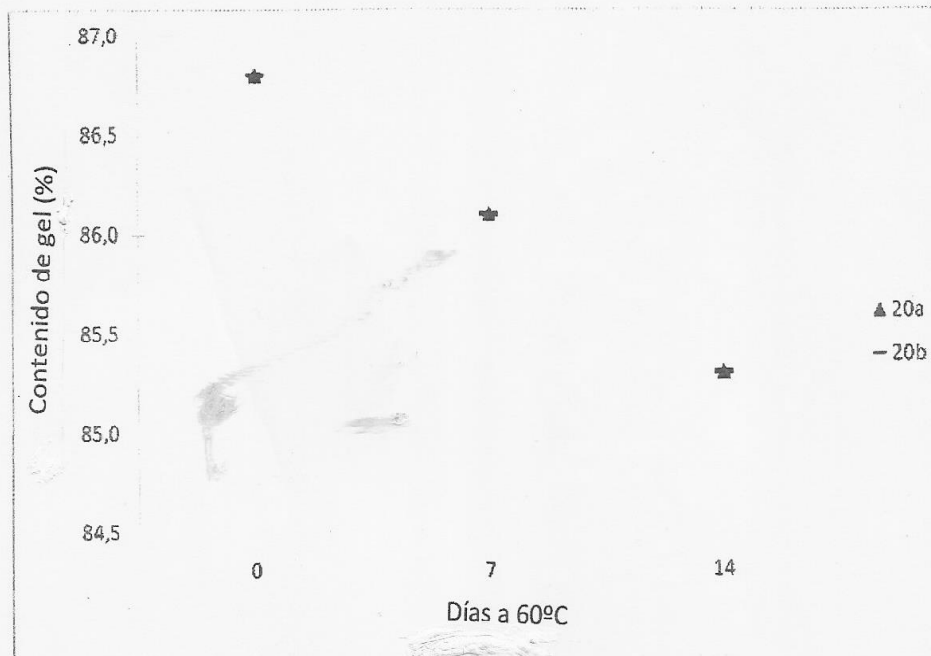


Fig.21

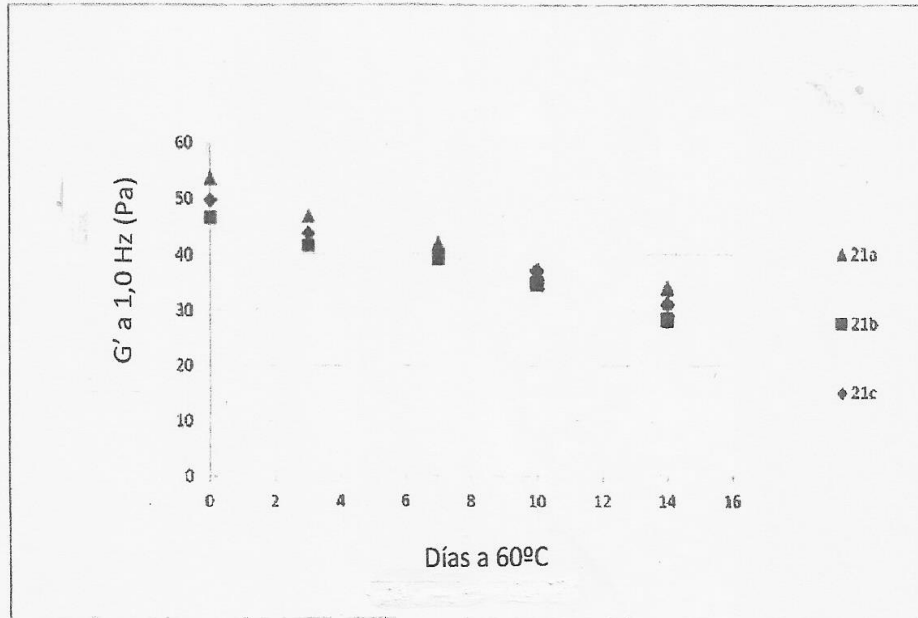


Fig.22

