

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 622 708**

51 Int. Cl.:

A61K 31/167 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.03.2009 PCT/IB2009/005048**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.02.2010 WO10015901**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.03.2009 E 09785852 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2017 EP 2323617**

54 Título: **GELES BASADOS EN ÁCIDO HIALURÓNICO QUE INCLUYEN HIDROCLORURO DE LIDOCAÍNA**

30 Prioridad:

04.08.2008 US 85956 P
11.08.2008 US 87934 P
11.09.2008 US 96278 P
26.02.2009 US 393768
26.02.2009 US 393884

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.07.2017

73 Titular/es:

ALLERGAN INDUSTRIE SAS (100.0%)
Route de Promery - Z.A. de Pre-Mairy
74370 Pringy, FR

72 Inventor/es:

LEBRETON, PIERRE

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 622 708 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).

GELES BASADOS EN ÁCIDO HIALURÓNICO QUE INCLUYEN HIDROCLORURO DE LIDOCAÍNA

Descripción**REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS**

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional de EE.UU. número 61/085.956, presentada el 4 de agosto de 2008, la Solicitud de Patente Provisional de EE.UU. número 61/087.934, presentada el 11 de agosto de 2008, la Solicitud de Patente Provisional de EE.UU. número 61/096.278, presentada el 11 de septiembre de 2008, la Solicitud No Provisional de EE.UU. número 12/393.768, presentada el 26 de febrero de 2009 y la Solicitud No Provisional de EE.UU. número 12/393.884, presentada el 26 de febrero de 2009.

CAMPO DE LA INVENCION

10 La presente invención se refiere de forma general a un método para preparar rellenos de tejido blando inyectables, y más específicamente se refiere a rellenos dérmicos y subdérmicos basados en ácido hialurónico que incluyen un agente anestésico, tal como se establece en las reivindicaciones.

ANTECEDENTES

15 De forma general se acepta que cuando una persona envejece, la cara comienza a mostrar los efectos de la gravedad, la exposición al sol y los años de movimientos musculares faciales, tal como al sonreír, fruncir el ceño, masticar y cerrar los ojos. Los tejidos subyacentes que mantienen la piel con una apariencia joven comienzan a deteriorarse, dando como resultado a menudo arrugas de expresión, arrugas de sonrisa, "patas de gallo" y grietas faciales, denominadas a menudo "efectos del envejecimiento".

20 En un esfuerzo por tratar o corregir los efectos del envejecimiento, se han desarrollado rellenos de tejidos blandos para ayudar a rellenar las líneas y depresiones faciales, y para restaurar la pérdida de volumen de tejido relativa a la pérdida de grasa. De este modo, los rellenos de tejido blando restauran temporalmente una apariencia más suave y juvenil.

25 Idealmente, los rellenos de tejido blando tienen una larga duración, una apariencia natural y son suaves y lisos cuando se implantan en la piel o debajo de la piel. Además, los rellenos de tejido blando son fáciles de implantar en un paciente usando una aguja fina, y requieren una baja fuerza de extrusión para la inyección. Los rellenos ideales tampoco producirían efectos secundarios adversos, y serían inyectables sin molestias, o con molestias mínimas, para el paciente.

30 Los rellenos de tejidos blandos basados en colágeno se desarrollaron hace más de 20 años, y durante algún tiempo los rellenos basados en colágeno bovino fueron los únicos rellenos dérmicos aprobados por la "Food and Drug Administration" (FDA) de EE.UU. Debido a que dichos rellenos dérmicos tienen base bovina, una de las principales desventajas ha sido el potencial de reacción alérgica en los pacientes. Se cree que aproximadamente el 3-5% de los sujetos humanos presentan reacciones alérgicas graves al colágeno bovino, requiriéndose por tanto una evaluación cuidadosa antes del uso de estos rellenos en cualquier persona particular. Además de las reacciones alérgicas, los rellenos basados en colágeno se degradan rápidamente tras ser inyectados y requieren tratamientos frecuentes para mantener una apariencia más suave y juvenil.

35 En febrero de 2003, las composiciones de relleno de colágeno derivado de humano recibieron la aprobación de la FDA. Estos colágenos proporcionan la ventaja de un riesgo significativamente reducido de reacciones alérgicas. Sin embargo, a pesar de la incidencia reducida de reacciones alérgicas, los rellenos derivados de colágeno humano aún presentan el problema de la rápida degradación del producto inyectado.

40 La investigación en rellenos que no produzcan reacciones alérgicas y que mantengan una apariencia más suave y juvenil ha llevado al desarrollo de productos basados en ácido hialurónico (AH). En diciembre de 2003 la FDA aprobó el primer relleno basado en AH. Esto dio pie rápidamente al desarrollo de otros rellenos basados en AH.

45 El AH, también conocido como hialuronano, es un polisacárido natural soluble en agua, específicamente un glucosaminoglucano, que es un componente principal de la matriz extra-celular y que se encuentra ampliamente distribuido en los tejidos animales. El AH tiene una excelente biocompatibilidad y no produce reacciones alérgicas cuando se implanta en un paciente. Además, el AH presenta la capacidad de asociarse a cantidades grandes de agua, lo que lo convierte en un excelente agente de volumen de los tejidos blandos.

50 El desarrollo de rellenos basados en AH que exhiban propiedades ideales *in vivo*, así como una capacidad de uso quirúrgico ideal, ha demostrado ser complejo. Por ejemplo, los rellenos basados en AH que exhiben unas propiedades de estabilidad *in vivo* deseables pueden llegar a ser tan viscosos que su inyección a través de agujas finas es difícil. Inversamente, los rellenos basados en AH que se inyectan con relativa facilidad a través de agujas finas a menudo presentan propiedades de estabilidad *in vivo* relativamente inferiores.

Un método para solventar este problema es usando rellenos basados en AH reticulado. El AH reticulado se forma haciendo reaccionar AH libre con un agente reticulante en las condiciones de reacción adecuadas. Los métodos

para preparar rellenos de tejidos blandos basados en AH que incluyen AH tanto libre como reticulado son bien conocidos.

5 Se ha propuesto incorporar determinados agentes terapéuticos, por ejemplo, agentes anestésicos tales como la lidocaína, en composiciones basadas en AH inyectables. Desafortunadamente, las composiciones basadas en AH que incorporan lidocaína durante el proceso de fabricación presentan propensión a una degradación parcial o casi completa antes de la inyección, particularmente durante las etapas de esterilización a alta temperatura y/o cuando se llevan a almacenamiento durante un periodo de tiempo significativo.

10 Un objetivo de los métodos de fabricación y uso de las composiciones de relleno blando basadas en AH descritas en la presente memoria, es proporcionar rellenos de tejidos blandos que no produzcan reacciones alérgicas en los pacientes, que sean biocompatibles y que sean estables y utilizables *in vivo*, y que incluyan uno o más agentes anestésicos locales.

COMPENDIO

15 La presente invención se refiere a un método para preparar un relleno de tejido blando, por ejemplo, un relleno dérmico o subdérmico, basado en ácido hialurónico (AH) y sales de AH farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, hialuronato sódico (NaAH). Las composiciones basadas en AH descritas en la presente memoria incluyen una cantidad terapéuticamente efectiva de HCl de lidocaína como al menos un agente anestésico. Las presentes composiciones basadas en AH incluyen al menos un agente anestésico que tiene una estabilidad mejorada, respecto a las composiciones basadas en AH convencionales que incluyen, por ejemplo, HCl de lidocaína, cuando son sometidas a técnicas de esterilización tales como autoclavado, y/o cuando son almacenadas durante periodos de tiempo largos a temperatura ambiente. Según la invención, se proporcionan los métodos para preparar dichas composiciones basadas en AH y se describen los productos que se fabrican mediante dichos métodos.

20 En la presente memoria se describen composiciones de relleno de tejido blando, comprendiendo de forma general dichas composiciones: un componente de ácido hialurónico reticulado con un agente reticulante seleccionado del grupo que consiste en 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), 1,4-bis(2,3-epoxipropoxi)butano, 1,4-bis(glicidiloxi)butano, 1,2-bis(2,3-epoxipropoxi)etileno y 1-(2,3-epoxipropil)-2,3-epoxiciclohexano, y 1,4-butanodiol diglicidil éter; y al menos un agente anestésico combinado con el componente de AH reticulado.

25 En otra realización, el al menos un agente anestésico es lidocaína. En una realización adicional, la cantidad del agente anestésico está presente en una concentración de entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 5,0% en peso de la composición. En otra realización adicional, el agente anestésico está presente en una concentración de entre aproximadamente 0,2% y aproximadamente 1,0% en peso de la composición. En una realización, el agente anestésico es lidocaína y está presente en una concentración de aproximadamente 0,3% en peso de la composición.

30 En otra realización, la composición de relleno de tejido blando tiene una fuerza de extrusión de entre aproximadamente 10 N y aproximadamente 13 N, por ejemplo, a una velocidad de aproximadamente 12,5 mm/minuto. En otra realización adicional, la composición tiene una viscosidad de entre aproximadamente 5 Pa*s y aproximadamente 450 Pa*s, por ejemplo, cuando se mide a aproximadamente 5 Hz.

35 En una realización, el componente de AH es un gel, por ejemplo, un gel hidratado cohesivo. En una realización, el componente de AH es un gel de AH reticulado que no tiene más de aproximadamente un 1% a aproximadamente un 10% de AH libre. Para los propósitos de esta descripción, el AH libre incluye AH totalmente libre, así como cadenas y fragmentos de AH ligeramente reticulados, todos en forma soluble en agua.

En otras realizaciones adicionales, el componente de AH comprende más de aproximadamente un 10%, por ejemplo, más de aproximadamente un 15%, por ejemplo, hasta aproximadamente un 20% o más de AH libre.

40 En otra realización adicional, el componente de AH es un gel que comprende partículas de AH reticulado en un medio relativamente fluido de AH libre. En algunas realizaciones, el componente de AH tiene un tamaño de partícula medio superior a aproximadamente 200 µm, por ejemplo, superior a aproximadamente 250 µm.

45 Además, en la presente memoria se describe una composición de relleno de tejido blando que comprende: un componente de AH reticulado con 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), presentando dicho componente de AH un grado de reticulación inferior a aproximadamente 5%, por ejemplo, de aproximadamente 2%, y un componente anestésico que tiene una concentración de entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 5,0% en peso de la composición de relleno de tejido blando, en donde el anestésico es lidocaína.

50 Según la invención, se proporcionan métodos para preparar composiciones de relleno de tejido blanco, métodos que comprenden las etapas de: proporcionar un componente de AH reticulado con al menos un agente reticulante seleccionado del grupo que consiste en 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), 1,2-bis(2,3-epoxipropoxi)etileno y 1-(2,3-epoxipropil)-2,3-epoxiciclohexano, o combinaciones de los mismos; ajustar el pH de dicho componente de AH a un pH ajustado por encima de 7,2; y añadir una disolución que contenga HCl de lidocaína como al menos un agente anestésico al componente de AH que tiene el pH ajustado para obtener una composición de relleno basada en AH.

En otra realización, la composición se esteriliza, por ejemplo, mediante autoclavado, para formar una composición esterilizada, y en donde la composición esterilizada es estable a temperatura ambiente durante al menos aproximadamente meses, por ejemplo, al menos 9 meses, al menos aproximadamente 12 meses, por ejemplo al menos aproximadamente 36 meses, o más.

5 En otra realización adicional, el pH ajustado está por encima de 7,5. En otra realización, el método comprende además la etapa de homogeneizar el componente de AH durante o después de la etapa de adición de la disolución que contiene el, al menos uno, agente anestésico. En una realización adicional, la etapa de homogeneizar comprende someter a la composición a mezclado con una cizalla controlada.

10 En otra realización, la etapa de proporcionar un componente de AH comprende proporcionar material de NaAH libre seco e hidratar el material de NaAH libre seco en una disolución alcalina para obtener un gel de NaAH libre alcalino. En otra realización adicional, el gel de NaAH libre tiene un pH superior a aproximadamente 8,0. En otra realización adicional, el pH es superior a aproximadamente 10.

15 En una realización adicional, el componente de AH comprende más de aproximadamente un 20% de AH libre y la porción reticulada del componente de AH tiene un grado de reticulación inferior a aproximadamente un 6% o inferior a aproximadamente un 5%.

En otra realización adicional, la composición de relleno de tejido blando presenta naturaleza particulada en tanto en cuanto comprende partículas de AH reticulado dispersadas en un medio de AH soluble fluido. En algunas realizaciones, el tamaño medio de dichas partículas es inferior a aproximadamente 200 μm , y en otras realizaciones el tamaño medio de dichas partículas es inferior a aproximadamente 250 μm .

20 En la presente memoria se describe además una composición de relleno de tejido blando que comprende: un componente de ácido hialurónico (AH) reticulado con 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), presentando dicho componente de AH un grado de reticulación inferior a aproximadamente un 5%, y un componente anestésico que tiene una concentración de entre aproximadamente un 0,1% y aproximadamente un 5,0% en peso de la composición de relleno de tejido blando, en donde el anestésico es lidocaína.

25 En una realización específica de la invención, se describe adicionalmente un método de preparación de una composición de relleno de tejido blando, comprendiendo el método las etapas de: proporcionar material de NaAH libre seco e hidratar el material de NaAH libre seco en una disolución alcalina para obtener un gel de NaAH libre alcalino; reticular el gel de NaAH libre con BDDE para formar una composición de AH alcalina reticulada con un grado de reticulación inferior a aproximadamente un 5% y con un pH por encima de aproximadamente 7,2; añadir una disolución que contiene HCl de lidocaína al componente de AH que tiene el pH ajustado para obtener dicha composición de relleno basada en AH; homogeneizar la composición de relleno basada en AH para formar así una composición de relleno basada en AH homogeneizada; y esterilizar la composición de relleno basada en AH formando de este modo una composición de relleno basada en AH esterilizada, en donde la composición de relleno de tejido blando tiene un tamaño de partícula superior a aproximadamente 200 μm , por ejemplo, un tamaño de partícula superior a aproximadamente 250 μm .

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: ilustra gráficamente la viscosidad de la Muestra 1 preparada sin lidocaína, con lidocaína y con ajuste del pH durante la formación, y con lidocaína pero sin ajuste de pH durante la formación frente a la frecuencia de cizalla.

40 Figura 2: ilustra gráficamente la viscosidad de la Muestra 2 preparada sin lidocaína, con lidocaína y con ajuste del pH durante la formación, y con lidocaína pero sin ajuste de pH durante la formación frente a la frecuencia de cizalla.

Figura 3: ilustra gráficamente la viscosidad de la Muestra 3 preparada sin lidocaína, con lidocaína y con ajuste del pH durante la formación, y con lidocaína pero sin ajuste de pH durante la formación frente a la frecuencia de cizalla.

Figura 4: ilustra gráficamente la viscosidad de la Muestra 4 preparada sin lidocaína, con lidocaína y con ajuste del pH durante la formación, y con lidocaína pero sin ajuste de pH durante la formación frente a la frecuencia de cizalla.

45 Figura 5: ilustra gráficamente la viscosidad de la Muestra 5 preparada sin lidocaína, con lidocaína y con ajuste del pH durante la formación, y con lidocaína pero sin ajuste de pH durante la formación frente a la frecuencia de cizalla.

Figura 6: ilustra gráficamente las características relativas de viscosidad/elasticidad de la Muestra 5 preparada sin lidocaína, con lidocaína y con ajuste del pH durante la formación, y con lidocaína pero sin ajuste del pH durante la formación frente a la frecuencia de cizalla.

50 Figura 7: ilustra gráficamente la viscosidad de la Muestra 6 preparada sin lidocaína, con lidocaína y con ajuste del pH durante la formación, y con lidocaína pero sin ajuste de pH durante la formación frente a la frecuencia de cizalla.

Figura 8: ilustra gráficamente las características relativas de viscosidad/elasticidad de la Muestra 6 preparada sin lidocaína, con lidocaína y con ajuste del pH durante la formación, y con lidocaína pero sin ajuste del pH durante la formación frente a la frecuencia de cizalla.

Figura 9: ilustra gráficamente la concentración de lidocaína en el gel de la Muestra 5 del Ejemplo 4 preparado mediante el procedimiento del Ensayo 2 frente al tiempo.

DEFINICIONES

5 Se pretende que determinados términos usados en la especificación se refieran a las siguientes definiciones, tal y como se detallan a continuación. Cuando la definición del término sea diferente del significado usado habitualmente para el término, el solicitante pretende utilizar las definiciones proporcionadas a continuación, a menos que se indique lo contrario específicamente.

10 Estable en autoclave o estable para autoclavar, tal como se usan en la presente memoria, describen un producto o composición que es resistente a la degradación, de tal modo que el producto o composición mantienen al menos uno, y preferiblemente todos, de los siguientes aspectos tras una esterilización en autoclave efectiva: apariencia transparente, pH, fuerza de extrusión y/o características reológicas, concentración de ácido hialurónico (AH), esterilidad, osmolaridad y concentración de lidocaína.

15 Centrifugación tal como se usa en la presente memoria se refiere al proceso de usar fuerzas centrífugas para distribuir uniformemente sustancias de mayor y menor densidad. La centrifugación se usa habitualmente para separar una fase líquida de una fase sólida o fase gel. Las separaciones de fase sustanciales resultantes de una centrifugación serían aquellas visibles al menos a simple vista, por ejemplo, una fase líquida y una fase sólida claramente separadas cuando se observan a simple vista.

20 AH de elevado peso molecular, tal como se usa en la presente memoria, describe un material de AH que tiene un peso molecular de al menos aproximadamente 1,0 millones de Daltons ($MW \geq 10^6$ Da ó 1 MDa) y hasta aproximadamente 4,0 MDa. Por ejemplo, el AH de elevado peso molecular en las presentes composiciones puede tener un peso molecular de aproximadamente 2,0 MDa. En otro ejemplo, el AH de elevado peso molecular puede tener un peso molecular de aproximadamente 2,8 MDa.

25 AH de bajo peso molecular, tal como se usa en la presente memoria, describe un material de AH que tiene un peso molecular inferior a aproximadamente 1,0 MDa. El AH de bajo peso molecular puede tener un peso molecular de entre aproximadamente 200.000 Da (0,2 MDa) y menos de aproximadamente 1,0 MDa, por ejemplo, entre aproximadamente 300.000 Da (0,3 M Da) y aproximadamente 750.000 Da (0,75 MDa).

30 El grado de reticulación, tal como se usa en la presente memoria, se refiere a los enlaces intermoleculares que unen las moléculas de polímero de AH individuales, o cadenas de monómero, en una estructura permanente, o tal como se describe en la presente memoria la composición de relleno de tejido blando. Además, el grado de reticulación para los propósitos de la presente descripción se define adicionalmente como la relación de porcentaje en peso del agente reticulante y las unidades monoméricas de AH dentro de la porción reticulada de la composición basada en AH. Se mide a través de la relación en peso de monómeros de AH respecto a reticulante (monómeros de AH:reticulante).

35 AH libre, tal como se usa en la presente memoria, se refiere a las moléculas de polímero de AH individuales que no están reticuladas, o lo están de forma muy limitada (grado de reticulación muy bajo), con la estructura macromolecular altamente reticulada (mayor grado de reticulación) que constituye la composición de relleno de tejido blando. El AH libre generalmente sigue siendo soluble en agua. El AH libre se puede definir alternativamente como el componente "no reticulado", o ligeramente reticulado, de la estructura macromolecular que constituye la composición de relleno de tejido blando descrita en la presente memoria.

40 Cohesivo, tal como se describe en la presente memoria, es la capacidad de la composición basada en AH para retener su forma y resistir la deformación. La cohesividad se ve afectada, entre otros factores, por la relación de peso molecular de AH libre inicial, por el grado de reticulación, por la cantidad de AH libre residual después de la reticulación, y por el pH de la composición basada en AH. Además, una composición basada en AH que es cohesiva resiste la separación de fases cuando se somete al método de ensayo descrito en la presente memoria en el
45 Ejemplo 1.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención se refiere de forma general a rellenos de tejido blando, por ejemplo, rellenos dérmicos o subdérmicos, basados en ácidos hialurónicos (AH) y sales de AH farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, hialuronato sódico (NaAH). En un aspecto, las composiciones basadas en AH descritas en la presente memoria
50 incluyen una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos un agente anestésico, por ejemplo, lidocaína. Las composiciones basadas en AH descritas en la presente memoria que incluyen al menos un agente anestésico tienen una estabilidad mejorada, con relación a las composiciones basadas en AH convencionales que incluyen, por ejemplo, lidocaína, cuando son sometidas a elevadas temperaturas y presiones, por ejemplo, las experimentadas durante la aplicación de técnicas de esterilización por calor y/o presión, por ejemplo, autoclavado y/o por ejemplo
55 cuando se almacenan a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo prolongado.

Las composiciones estables mantienen al menos uno de los siguientes aspectos, o todos, tras una esterilización en autoclave efectiva y/o tras un almacenamiento prolongado: apariencia transparente, pH para uso en un paciente, fuerza de extrusión y/o características reológicas, concentración de ácido AH, esterilidad, osmolaridad y concentración de lidocaína. También se proporcionan los métodos o procesos para preparar dichas composiciones basadas en AH, así como los productos preparados mediante dichos métodos y procesos.

Tal como se usa en la presente memoria, ácido hialurónico (AH) puede referirse a cualquiera de sus sales de hialuronato, e incluye, aunque sin limitación, hialuronato sódico (NaAH), hialuronato potásico, hialuronato de magnesio, hialuronato de calcio, y combinaciones de los mismos.

De forma general, la concentración de AH en las composiciones descritas en la presente memoria es preferiblemente de al menos 10 mg/mL y hasta aproximadamente 40 mg/mL. Por ejemplo, la concentración de AH en algunas de las composiciones se encuentra en el rango de entre aproximadamente 20 mg/mL y aproximadamente 30 mg/mL. Además, por ejemplo, en algunas realizaciones, las composiciones tienen una concentración de AH de aproximadamente 22 mg/mL, aproximadamente 24 mg/mL, aproximadamente 26 mg/mL ó aproximadamente 28 mg/mL.

Adicionalmente, la concentración de uno o más anestésicos es una cantidad efectiva para mitigar el dolor experimentado durante la inyección de la composición. El agente anestésico, del que hay al menos uno, es lidocaína en la forma de HCl de lidocaína. Las composiciones descritas en la presente memoria pueden tener una concentración de lidocaína de entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 5% en peso de la composición, por ejemplo, de aproximadamente 0,2% a aproximadamente 1,0% en peso de la composición. En una realización, la composición tiene una concentración de lidocaína de aproximadamente 0,3% en peso de la composición. La concentración de lidocaína en las composiciones descritas en la presente memoria puede ser terapéuticamente efectiva, lo que significa que la concentración es adecuada para proporcionar un beneficio terapéutico sin infligir daño al paciente.

En un aspecto de la descripción, se describe un método para preparar una composición basada en AH que incluye una cantidad efectiva de lidocaína, en donde el método comprende proporcionar una composición precursora que comprende un gel basado en AH reticulado cohesivo, añadir a la misma una disolución que contiene lidocaína, por ejemplo en la forma de HCl de lidocaína, y homogeneizar la mezcla para obtener una composición basada en AH cohesiva, reticulada al menos parcialmente, que incluye lidocaína que es estable a autoclavado. El gel basado en AH cohesivo reticulado no incluye más de entre aproximadamente un 1% y aproximadamente un 10% de material de AH libre en volumen, por ejemplo, no incluye más de aproximadamente un 5% de material de AH libre.

En algunas realizaciones de la presente invención, el componente de AH de las presentes composiciones, en la presente memoria de aquí en adelante a veces nombrado como "composición precursora", es un gel cohesivo hidratado. Un gel cohesivo, comparado con un gel no cohesivo, es capaz de retener mejor su forma y de resistir la deformación, por ejemplo, tras ser sometido a cizalla o a otro tipo de tensiones. El presente inventor ha descubierto que dichos geles cohesivos tienen menor probabilidad de degradarse sustancialmente o de volverse inestables con el tiempo, o cuando son sometidos a estímulos externos tales como esterilización, con respecto a los geles no cohesivos.

Sin pretender establecer ninguna teoría particular de operatividad, se cree que la cohesión de la composición precursora en algunas realizaciones de la invención actúa para prevenir o impedir sustancial o completamente cualquier ruptura o degradación del AH reticulado de la composición por la adición de lidocaína.

Se cree que dicha degradación se produce principalmente porque muchos geles basados en AH reticulado, quizá la mayoría, se fabrican convencionalmente de un modo que produce geles que no son suficientemente cohesivos para evitar dicha degradación cuando se añade la lidocaína. Ahora se ha descubierto que la adición de lidocaína a composiciones basadas en AH reticulado suficientemente cohesivas no produce una degradación sustancial o significativa de las composiciones, y las composiciones mantienen su integridad en términos de reología, viscosidad, apariencia y otras características incluso cuando se almacenan durante periodos de tiempo largos, por ejemplo, durante un periodo de tiempo de al menos aproximadamente 6 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 12 meses o aproximadamente 36 meses o más, por ejemplo a temperatura ambiente, e incluso tras ser sometidas a procedimientos de esterilización, por ejemplo, autoclavado.

Es un descubrimiento sorprendente que las formulaciones de composiciones basadas en AH reticulado que incluyen lidocaína en la forma de HCl de lidocaína pueden fabricarse de un modo para producir composiciones de AH/lidocaína inyectables que son estables en la esterilización.

En la presente memoria se describe además un método para preparar composiciones basadas en AH estables que contienen una cantidad efectiva de lidocaína mediante la preparación de una composición precursora, por ejemplo, un gel basado en AH reticulado cohesivo, añadiendo la clorhidrato de lidocaína al gel para formar una mezcla de gel de AH/lidocaína, y homogeneizando la mezcla, para obtener una composición basada en AH reticulado que es estable en el autoclavado.

- 5 En determinadas realizaciones, la composición precursora es un gel basado en AH hidratado cohesivo. Dicho gel "cohesivo" generalmente no incluirá más de entre aproximadamente un 1% y aproximadamente un 10% de forma de AH líquido soluble o de AH libre en volumen. Dichos geles cohesivos son considerados por algunos en la industria como composiciones monofásicas o sustancialmente de fase única, puesto que menos de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 10% de la composición comprende AH libre.
- En otras realizaciones, la composición precursora es un gel basado en AH hidratado no cohesivo. Dicho gel "no cohesivo" generalmente incluye más del 10%, por ejemplo, más de aproximadamente el 15%, por ejemplo, más del 20% o más de AH libre.
- 10 En algunas realizaciones, la composición precursora puede comprender un primer componente que incluye AH relativamente altamente reticulado en un fase sustancialmente sólida, y un segundo componente que comprende AH libre o relativamente menos reticulado en una fase sustancialmente fluida en la que se dispersa el AH relativamente altamente reticulado.
- 15 En algunas realizaciones, las presentes composiciones presentan naturaleza de tipo particulado y comprenden partículas de AH relativamente altamente reticulado dispersadas en un medio de AH libre. En algunas realizaciones, el tamaño medio de dichas partículas de AH reticulado es al menos de aproximadamente 200 μm o al menos de aproximadamente 250 μm . Dichas composiciones particuladas generalmente son menos cohesivas que otras composiciones similares que no presentan partículas discernibles, o que presentan partículas con un tamaño medio inferior a 200 μm .
- 20 Por ejemplo, en algunas realizaciones, la composición precursora puede fabricarse aplicando presión a una masa de gel basado en AH relativamente altamente reticulado a través de un tamiz o una malla para crear partículas de AH relativamente altamente reticulado de tamaño y forma uniformes de forma general. Dichas partículas se mezclan a continuación con un material que actúa de vehículo, por ejemplo, una cantidad de AH libre, para producir un gel.
- 25 En otras realizaciones, se describe un método para preparar una composición basada en AH que incluye una cantidad efectiva de lidocaína, en donde el método comprende proporcionar una composición precursora que incluye un pH sustancialmente neutro, gel basado en AH al menos parcialmente reticulado, y ajustar el pH del gel a un pH igual o superior a aproximadamente 7,2, por ejemplo, de aproximadamente 7,5 a aproximadamente 8,0. El método comprende además la etapa de combinar una disolución que contiene lidocaína, por ejemplo, en la forma de HCl de lidocaína, con el gel ligeramente alcalino después de que el pH haya sido ajustado de esta forma, y obtener una composición basada en AH que incluye lidocaína, que es estable en el autoclave.
- 30 Otro método de preparación de una composición basada en AH estable que contiene una cantidad efectiva de lidocaína, tal como se describe en otro punto de la presente memoria, comprende generalmente las etapas de: proporcionar material de NaAH purificado, por ejemplo, en la forma de fibras; hidratar el material; y reticular el material hidratado con un agente de reticulación adecuado para formar un gel basado en AH reticulado. El método comprende además las etapas de neutralizar e hinchar el gel, y de añadir al gel una disolución que contiene lidocaína, preferiblemente una sal ácida de clorhidrato de lidocaína, para formar un gel de AH/lidocaína.
- 35 Adicionalmente, el método comprende además homogeneizar el gel de AH/lidocaína y empaquetar el gel de AH/lidocaína homogeneizado, por ejemplo, en jeringas para ser dispensado. A continuación las jeringas son esterilizadas mediante autoclavado a una temperatura y presión efectivas. Según la presente descripción, los geles de NaAH/lidocaína cohesivos esterilizados y empaquetados exhiben una estabilidad potenciada con respecto a las composiciones basadas en AH que incluyen lidocaína preparadas usando métodos convencionales.
- 40 Los presentes productos y composiciones se consideran esterilizados cuando se exponen a temperaturas de al menos aproximadamente 120°C a aproximadamente 130°C y/o presiones de al menos aproximadamente 82737 Pa (12 libras por pulgada cuadrada, PSI) a aproximadamente 137895 Pa (20 PSI) durante un autoclavado por un periodo de tiempo de al menos 1 minuto a 15 minutos.
- 45 Los presentes productos y composiciones también permanecen estables cuando se almacenan durante largos periodos de tiempo a temperatura ambiente. Preferiblemente, las presentes composiciones permanecen estables durante un periodo de tiempo de al menos aproximadamente dos meses, o de al menos aproximadamente seis meses, o de al menos aproximadamente 9 meses, o de al menos aproximadamente 12 meses, o de al menos aproximadamente 36 meses, a temperaturas de al menos aproximadamente 25°C. En una realización específica, las composiciones son estables a una temperatura de hasta aproximadamente 45°C durante un periodo de al menos dos meses.
- 50 El proceso de fabricación incluye, en una realización, la etapa inicial de proporcionar material de AH sin purificar en la forma de fibras o polvos de AH secos. El material de AH sin purificar puede ser AH, sus sales y/o mezclas de los mismos. En una realización preferida, el material de AH comprende fibras o polvos de NaAH, e incluso más preferiblemente, NaAH de origen bacteriano. En algunos aspectos de la presente descripción, el material de AH puede derivar de un animal. El material de AH puede ser una combinación de materiales sin purificar que incluyen AH y al menos otro polisacárido adicional, por ejemplo, glucosaminoglucano (GAG).
- 55

- 5 En algunas realizaciones, el material de AH de las composiciones comprende o consta casi completamente de AH de peso molecular elevado. Es decir, casi el 100% del material de AH de las presentes composiciones puede ser AH de elevado peso molecular, tal como se ha definido anteriormente. En otras realizaciones, el material de AH de las composiciones comprende una combinación de AH de peso molecular relativamente alto y AH de peso molecular relativamente bajo, tal como se ha definido anteriormente.
- 10 El material de AH de las composiciones puede comprender entre aproximadamente un 5% y aproximadamente un 95% de AH de elevado peso molecular, incluyendo el resto del material de AH un AH de bajo peso molecular. En una realización típica de la invención, la proporción de AH de elevado peso molecular a bajo peso molecular es preferiblemente mayor que 2 ($p/p \geq 2$), presentando el AH de elevado peso molecular un peso molecular por encima de 1,0 MDa.
- 15 Los especialistas en la técnica apreciarán que la selección de un material de AH de alto y bajo peso molecular, y sus porcentajes o proporciones relativos, depende de las características deseadas, por ejemplo, de la fuerza de extrusión, el módulo elástico, el módulo viscoso y el ángulo de fase expresado como la relación del módulo viscoso respecto al módulo elástico, la cohesividad, etc., del producto basado en AH final. Para información adicional que puede ser útil para entender éste y otros aspectos de la presente descripción, véase Lebreton, Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. N° 2006/0194758.
- 20 Los geles basados en AH pueden prepararse según la presente descripción, en primer lugar limpiando y purificando el material de AH seco o sin purificar que tiene la relación de peso molecular alto/bajo deseada. Estas etapas generalmente implican la hidratación de las fibras o polvos de AH secos en la proporción de peso molecular alto/bajo deseada, por ejemplo, usando agua pura, y filtrando el material para eliminar elementos extraños grandes y/u otras impurezas. El material hidratado y filtrado a continuación es secado y purificado. Los AH de alto y de bajo peso molecular pueden limpiarse y purificarse por separado, o pueden mezclarse juntos, por ejemplo, en la proporción deseada, justo antes de la reticulación.
- 25 En un aspecto de la presente descripción, se hidratan fibras de NaAH, secas y puras, en una disolución alcalina para producir un gel alcalino de NaAH libre. Se puede usar cualquier disolución alcalina adecuada para hidratar el NaAH en esta etapa, por ejemplo, aunque sin limitación, disoluciones acuosas que contengan hidróxido sódico (NaOH), hidróxido potásico (KOH), bicarbonato sódico (NaHCO_3), hidróxido de litio (LiOH), y otros similares. En otra realización, la disolución alcalina adecuada es una disolución acuosa que contenga NaOH. El gel alcalino resultante tendrá un pH por encima de 7,5. El pH del gel alcalino resultante puede tener un pH superior a 9, o un pH superior a 10, o un pH superior a 12, o un pH superior a 13.
- 30 La siguiente etapa del proceso de fabricación implica la etapa de reticulación del gel de NaAH alcalino hidratado con un agente de reticulación seleccionado entre 1,4-butanodiol diglicidil éter (o 1,4-bis(2,3-epoxipropoxi)butano o 1,4-bis-glicidiloxibutano, todos los cuales se conocen habitualmente como BDDE), 1,2-bis(2,3-epoxipropoxi)etileno y 1-(2,3-epoxipropil)-2,3-epoxiciclohexano. El uso de más de un agente de reticulación no queda excluido del alcance de la presente descripción. En un aspecto de la presente descripción, los geles de AH descritos en la presente memoria son reticulados usando BDDE.
- 35 La etapa de reticulación puede llevarse a cabo usando cualquier medio conocido por los especialistas en la técnica. Los especialistas en la técnica apreciarán cómo optimizar las condiciones de reticulación según la naturaleza del AH, y cómo llevar a cabo la reticulación en un grado óptimo.
- 40 El grado de reticulación para los propósitos de la presente descripción se define como la proporción de porcentaje en peso del agente reticulante respecto de las unidades monoméricas de AH dentro de la porción reticulada de la composición basada en AH. Se mide a través de la proporción en peso de monómeros de AH respecto a reticulante (monómeros de AH : reticulante).
- 45 El grado de reticulación del componente de AH de las presentes composiciones es al menos de aproximadamente el 2% y hasta aproximadamente el 20%.
- En otras realizaciones, el grado de reticulación es superior al 5%, por ejemplo, de aproximadamente el 6% a aproximadamente el 8%.
- 50 En algunas realizaciones, el grado de reticulación está entre aproximadamente el 4% y aproximadamente el 12%. En algunas realizaciones, el grado de reticulación es inferior a aproximadamente el 6%, por ejemplo, inferior a aproximadamente el 5%.
- En algunas realizaciones, el componente de AH es capaz de absorber al menos aproximadamente una vez su peso en agua. Cuando está neutralizado e hinchado, el componente de AH reticulado y el agua absorbida por el componente de AH reticulado se encuentran en una proporción de aproximadamente 1:1. Los geles basados en AH hidratado resultantes presentan la característica de ser altamente cohesivos.
- 55 Los geles basados en AH de acuerdo a algunas realizaciones de la invención pueden presentar una cohesividad suficiente para que los geles no sufran una separación de fases sustancial tras ser centrifugados a 2000 rd/min

durante 5 minutos. En otra realización, los geles presentan la característica de ser capaces de absorber al menos una vez su peso en agua, y de presentar una cohesividad suficiente para que cuando se hinchan con agua en una proporción gel/agua de aproximadamente 1:1, los geles mantengan su integridad, por ejemplo, al ser sometidos a centrifugación.

- 5 Los geles de AH reticulados hidratados pueden hincharse para obtener la cohesividad deseada. Esta etapa puede llevarse a cabo neutralizando el gel de AH reticulado hidratado, por ejemplo, añadiendo una disolución acuosa que contiene un ácido, tal como HCl. A continuación los geles son hinchados en una disolución salina tamponada con fosfato (PBS) durante un tiempo suficiente y a una temperatura baja.

- 10 En una realización, los geles hinchados resultantes son altamente cohesivos sin partículas visibles distinguibles, por ejemplo, sin partículas visibles distinguibles cuando se observan a simple vista. En una realización preferida, los geles no presentan partículas visibles distinguibles observados bajo un aumento inferior a 35X.

- 15 Los geles cohesivos de fase sustancialmente única son purificados a continuación empleando medios convencionales tales como diálisis o precipitación en alcohol, para recuperar el material reticulado, para estabilizar el pH del material y para eliminar cualquier resto de agente de reticulación sin reaccionar. Se puede añadir agua adicional o una disolución acuosa ligeramente alcalina para llevar la concentración del NaAH en la composición a una concentración deseada.

- 20 El pH de los geles de AH reticulados, purificados, con pH sustancialmente neutro, se ajusta para hacer que el gel se vuelva ligeramente alcalino, de tal modo que los geles tengan un pH superior a 7,2, por ejemplo, de 7,5 a 8,0. Esta etapa puede llevarse a cabo mediante cualquier medio adecuado, por ejemplo, añadiendo a los geles una cantidad adecuada de NaOH, KOH, NaHCO_3 o LiOH diluidos, o cualquier otra molécula, disolución y/o composición tamponante alcalinas conocidas por el especialista en la técnica.

- 25 A continuación se añade una cantidad efectiva de HCl de lidocaína a los geles de NaAH cohesivos purificados. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se proporciona el HCl de lidocaína en forma de polvo que se solubiliza en agua para inyección (WFI, del inglés "water for injection"). Los geles se mantienen neutros con un tampón o ajustando con NaOH diluido para que la composición final de AH/lidocaína tenga un pH deseado, sustancialmente neutro. Preferiblemente, las composiciones de relleno basadas en AH finales que incluyen lidocaína tendrán una concentración de lidocaína de entre al menos aproximadamente 0,1% y aproximadamente 5%, por ejemplo, aproximadamente 2% p/p de la composición, o en otro ejemplo aproximadamente 0,3%.

- 30 Tras la adición del HCl de lidocaína, o alternativamente, durante la adición del HCl de lidocaína, los geles de AH/lidocaína, o las composiciones, se homogenizan para crear geles de AH/lidocaína cohesivos altamente homogéneos que tienen una consistencia y estabilidad deseadas. Preferiblemente, la etapa de homogeneización comprende mezclar, agitar o batir los geles con una fuerza de cizalla controlada que obtenga mezclas sustancialmente homogéneas.

- 35 Las composiciones de AH/lidocaína descritas en la presente memoria presentan una viscosidad que es dependiente de las propiedades de la composición y de la presencia de al menos un agente anestésico. La viscosidad de la composición de AH/lidocaína puede ser de aproximadamente 50 Pa*s a aproximadamente 450 Pa*s. En otras realizaciones, la viscosidad puede ser de aproximadamente 50 Pa*s a aproximadamente 300 Pa*s, de aproximadamente 100 Pa*s a aproximadamente 400 Pa*s, o de aproximadamente 250 Pa*s a aproximadamente 400 Pa*s, o de aproximadamente 50 Pa*s a aproximadamente 250 Pa*s.

- 40 Tras homogeneización, las composiciones de AH/lidocaína son introducidas en jeringas y esterilizadas. Las jeringas útiles según la presente descripción incluyen cualquier jeringa conocida en la técnica capaz de administrar composiciones de rellenos dérmicos viscosos. Generalmente, las jeringas tienen un volumen interno de aproximadamente 0,4 mL a aproximadamente 3 mL, más preferiblemente de entre aproximadamente 0,5 mL y aproximadamente 1,5 mL o de entre aproximadamente 0,8 mL y aproximadamente 2,5 mL. Este volumen interno está asociado al diámetro interno de la jeringa, que desempeña una función clave en la fuerza de extrusión necesaria para inyectar composiciones de rellenos dérmicos de alta viscosidad. Los diámetros internos generalmente son de aproximadamente 4 mm a aproximadamente 9 mm, más preferiblemente de aproximadamente 4,5 mm a aproximadamente 6,5 mm o de aproximadamente 4,5 mm a aproximadamente 8,8 mm. Además, la fuerza de extrusión necesaria para administrar las composiciones de AH/lidocaína con la jeringa depende del calibre de la aguja. Los calibres de aguja usados generalmente incluyen calibres de entre aproximadamente 18G y aproximadamente 40G, más preferiblemente de aproximadamente 25G a aproximadamente 33G o de aproximadamente 16G a aproximadamente 25G. El especialista en la técnica puede determinar las dimensiones correctas de la jeringa y el calibre de aguja requeridos para alcanzar un requerimiento de fuerza de extrusión concreta.

- 55 Las fuerzas de extrusión presentadas por las composiciones de AH/lidocaína descritas en la presente memoria usando las dimensiones de aguja descritas antes, son a una velocidad de inyección que es confortable para el paciente. Confortable para el paciente se usa para definir una velocidad de inyección que no lesione o produzca un dolor excesivo al paciente durante la administración en el tejido blando. El especialista en la técnica apreciará que

5 confortable, tal como se usa en la presente memoria, incluye no solo el confort del paciente, sino también el confort y la habilidad del médico o practicante que inyecte las composiciones de AH/lidocaína. Aunque con las composiciones de AH/lidocaína de la presente descripción se pueden obtener determinadas fuerzas de extrusión, el especialista en la técnica entenderá que fuerzas de extrusión elevadas pueden conducir a una falta de control durante la inyección, y que dicha falta de control puede ocasionar un dolor adicional al paciente. Las fuerzas de extrusión de las presentes composiciones de AH/lidocaína pueden oscilar entre aproximadamente 8 N y aproximadamente 15 N, o más preferiblemente entre aproximadamente 10 N y aproximadamente 13 N, ó entre aproximadamente 11 N y aproximadamente 12 N, por ejemplo a una velocidad de extrusión de aproximadamente 12,5 mm/min.

10 Esterilización, tal como se usa en la presente memoria, comprende cualquier método conocido en la técnica para matar o eliminar de forma efectiva agentes transmisibles, preferiblemente sin alterar o degradar sustancialmente las composiciones de AH/lidocaína.

15 Un método de esterilización preferible de las jeringas rellenas es mediante autoclave. El autoclavado puede llevarse a cabo aplicando una combinación de calor, presión y humedad a una muestra que necesite ser esterilizada. Para esta etapa se pueden usar muchas temperaturas, presiones y tiempos de ciclo diferentes. Por ejemplo, las jeringas rellenas pueden ser esterilizadas a una temperatura de al menos aproximadamente 120°C a aproximadamente 130°C o más. Se puede utilizar humedad o no. La presión aplicada en algunas realizaciones depende de la temperatura usada en el proceso de esterilización. El ciclo de esterilización puede ser de al menos aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 20 minutos o más.

20 Otro método de esterilización incorpora el uso de una especie gaseosa que se sabe que produce la muerte o que elimina agentes transmisibles. Preferiblemente, se usa óxido de etileno como gas de esterilización, que es conocido en la técnica como agente útil para la esterilización de dispositivos y productos médicos.

25 Un método de esterilización adicional incorpora el uso de una fuente de irradiación que es conocida en la técnica por matar o eliminar agentes transmisibles. Se dirige un haz de radiación a la jeringa que contiene la disolución de AH/lidocaína, y la longitud de onda de energía mata o elimina los agentes transmisibles no deseados. La energía preferible útil incluye, aunque sin limitación, luz ultravioleta (UV), radiación gamma, luz visible, microondas o cualquier otra longitud de onda o banda de longitudes de onda que mate o elimine los agentes transmisibles no deseados, sin alterar o degradar sustancialmente la composición de AH/lidocaína.

30 Además se describen en otra realización métodos de fabricación de composiciones cohesivas basadas en AH que comprenden de forma general las etapas de proporcionar un gel basado en AH reticulado sin un anestésico, (denominado a partir de aquí, a veces, gel precursor), ajustar el pH del gel precursor para obtener un gel que tiene un pH de entre aproximadamente 7,2 y aproximadamente 8,0, y añadir una cantidad adecuada de lidocaína, u otro agente anestésico, a los geles de pH ajustado para obtener composiciones basadas en AH cohesivas que incluyen un agente anestésico. En una realización, el gel precursor es un gel altamente cohesivo, que comprende sustancialmente una única fase, que no comprende más de aproximadamente un 1% a aproximadamente un 10% en volumen de AH libre, por ejemplo, no más aproximadamente un 10% en volumen de AH libre. En otra realización, el gel precursor es un gel relativamente menos cohesivo que comprende al menos de un 10% a aproximadamente un 20% o más de AH libre en volumen.

Ejemplo 1

Método para evaluar la cohesividad del gel

40 Con fines meramente ilustrativos y sin pretender que sea limitativo de la presente invención en modo alguno, se pueden llevar a cabo los siguientes ensayos para evidenciar o cuantificar la cohesividad de una composición de gel basada en AH.

45 En primer lugar, se colocan 0,2 g ó 0,4 g de una composición de gel a evaluar en una jeringa de vidrio. A continuación, se añaden 0,2 g o más de tampón de fosfato a la jeringa y la mezcla se agita intensamente durante 1 hora para obtener una mezcla homogénea. A continuación, la mezcla homogeneizada se centrifuga durante 5 minutos a 2000 tr/min para eliminar las burbujas de aire y para permitir la decantación de partículas. La jeringa se coloca entonces en posición vertical y se deposita una gota de colorante de eosina en la superficie del gel con una jeringa y una aguja de calibre 18G. Después de 10 minutos, el colorante se ha difundido lentamente a través del gel.

50 Tras dilución del gel, homogeneización y decantación, un gel de cohesividad relativamente lenta muestra una separación de fases (una fase superior diluida menos viscosa sin partículas y una fase inferior compuesta por partículas decantadas que son visibles a simple vista o con un microscopio). En las mismas condiciones, un gel altamente cohesivo muestra sustancialmente ausencia de separación de fases, y se evita que el colorante difunda en la formulación cohesiva. Un gel relativamente menos cohesivo, por otro lado, muestra una separación de fases clara.

55

Ejemplo 2**Síntesis de relleno de tejido blando con lidocaína**

5 Las fibras o polvos de NaAH se hidratan en una disolución alcalina, por ejemplo, una disolución acuosa que contiene NaOH. La mezcla se agita a temperatura ambiente, aproximadamente 23°C, para formar un gel de AH alcalino sustancialmente homogéneo.

Se diluye un agente reticulante, BDDE, en una disolución acuosa y se añade al gel de AH alcalino. La mezcla se homogeniza durante varios minutos.

10 Alternativamente, el BDDE se puede añadir directamente a las fibras de AH (en estado seco) al principio del proceso, antes de la hidratación. La reacción de reticulación comenzará entonces de forma relativamente lenta a temperatura ambiente, asegurando una homogeneidad y eficacia de reticulación incluso mejores. Los métodos de reticulación de polímeros en estado seco usando un agente reticulante polifuncional tal como BDDE se describen, por ejemplo, en Piron et al., Patente de EE.UU. N° 6.921.819.

15 La mezcla de gel de AH reticulado resultante se calienta a continuación a aproximadamente 50°C durante aproximadamente 2,5 horas. En ese momento el material es un gel de AH/BDDE altamente reticulado (aspecto = gel sólido). Este gel reticulado se neutraliza a continuación con una disolución ácida adecuada. El gel de AH neutralizado se hincha entonces en un tampón de fosfato a una temperatura fría, por ejemplo a una temperatura de 5°C, para obtener un gel de AH altamente cohesivo. En este ejemplo específico, la disolución salina tamponada con fosfato contiene agua-para-inyección (WFI), hidrógeno fosfato disódico y dihidrógeno fosfato sódico. Cuando está neutralizado e hinchado, el componente de AH reticulado y el agua absorbida por el componente de AH reticulado se encuentran en una proporción de aproximadamente 1:1.

25 El gel de AH hinchado cohesivo se agita entonces mecánicamente y se rellena en membranas de diálisis, y se dializa contra un tampón de fosfato. El gel de AH se rellena en membranas de diálisis y se dializa contra un tampón de fosfato durante varios días con cambios regulares del baño, a fin de eliminar el reticulante no reaccionado, estabilizar el pH cerca de la neutralidad y asegurar una osmolaridad apropiada del gel de AH. La osmolaridad del gel de AH cohesivo resultante está entre aproximadamente 200 mOsmol y aproximadamente 400 mOsmol, lo más preferiblemente aproximadamente 300 mOsmol.

Después de la diálisis, el gel de AH cohesivo resultante tiene un pH sustancialmente neutro y no tiene partículas distinguibles visiblemente en un medio fluido cuando se observa con un aumento inferior a 35X.

30 Primero se solubiliza en WFI clorhidrato de lidocaína (HCl de lidocaína) en forma de polvo, y se filtra a través de un filtro de 0,2 µm. Se añade una disolución diluida de NaOH al gel de AH cohesivo a fin de alcanzar un pH ligeramente básico (por ejemplo, un pH de entre aproximadamente 7,5 y aproximadamente 8). A continuación se añade la disolución de HCl de lidocaína al gel ligeramente básico para alcanzar una concentración final deseada, por ejemplo, una concentración de aproximadamente 0,3% (p/p). El pH resultante de la mezcla de AH/lidocaína es entonces aproximadamente 7 y la concentración de AH es aproximadamente 24 mg/mL. Se lleva a cabo una agitación mecánica con el objetivo de obtener una homogeneidad apropiada en un reactor estándar equipado con un mecanismo de mezcla apropiado. La composición resultante es cohesiva.

40 Si se desea, se puede añadir una cantidad adecuada de gel de AH libre a la mezcla de gel de AH/lidocaína con la ventaja de aumentar la cinética de la administración de lidocaína. Por ejemplo, las fibras de AH libres se hinchan en una disolución tamponante de fosfato, para obtener un gel viscoelástico homogéneo. Este gel de AH libre se añade a continuación al gel de AH reticulado/lidocaína (por ejemplo, a aproximadamente 5%, p/p). El gel resultante se rellena a continuación en jeringas esterilizadas y se autoclavan a temperaturas y presiones suficientes para la esterilización durante al menos aproximadamente 1 minuto.

45 Tras autoclavar, el producto de AH/lidocaína final se envasa y se distribuye a los médicos. El producto fabricado según este método exhibe una o más características de estabilidad como se ha definido anteriormente en la presente memoria. Por ejemplo, el producto de AH/lidocaína autoclavado presenta una viscosidad, cohesividad y fuerza de extrusión que son aceptables. No se observó degradación del producto de gel de AH/lidocaína durante el ensayo del producto después de que el producto hubiera pasado varios meses en almacenamiento.

Ejemplo 3**Propiedades de los rellenos de tejido blando**

50 Las propiedades de las composiciones de AH/lidocaína fabricadas según los métodos descritos en la presente memoria se muestran a continuación en la Tabla 1. Por ejemplo, la fuerza de extrusión se midió usando un INSTRON® Advanced Materials Testing System Model 5564 (Instron, Norwood, MA) ejecutando el software BLUEHILL® versión 2.11 (Instron, Norwood, MA). Otros datos reológicos fueron adquiridos usando una Columna de ensayo Versa con un dinamómetro MECMESIN® AGF 100 N (Mecmesin Limited, West Sussex, Reino Unido)

ejecutando el software Emperor y un reómetro TERMO FISHER SCIENTIFIC® RS600 (Thermo Fisher Scientific, Inc. Corp., Waltham, MA).

Tabla 1

	Composición de AH/lidocaína
Apariencia	Gel transparente homogéneo
pH	7,2
Fuerza de extrusión (N)	10,8 N
Contenido de NaAH	23,7 mg/g
Esterilidad	Estéril ($SAL \leq 10^{-6}$)
Osmolaridad	321 mOsm/kg
Contenido de lidocaína (%)	0,29%
Contenido de 2,6-dimetilanilina	Conforme

- 5 Para asegurar que las especificaciones del producto se mantienen durante el almacenamiento de la composición, se llevaron a cabo múltiples estudios. Adicionalmente, se midió el contenido de 2,6-dimetilanilina para confirmar la ausencia de degradación de lidocaína.

La Tabla 2 proporciona un resumen de los resultados de los ensayos de estabilidad para la composición fabricada como se ha descrito en la presente memoria.

10

Tabla 2

	Composición de AH/lidocaína		
Ensayo	Resultados a 3 meses	Resultados a 6 meses	Resultados a 9 meses
Aspecto transparente y homogéneo	Conforme	Conforme	Conforme
pH	7,2	7,2	7,2
Fuerza de extrusión (N)	11,9	11,1	11,9
Concentración de NaAH (mg/g)	23,8	23,1	24,2
Esterilidad	Conforme	Conforme	Conforme
Osmolaridad (mOsm/kg)	349	329	342
Contenido de lidocaína (%)	0,29	0,29	0,29
Contenido de 2,6-dimetil anilina	Conforme	Conforme	Conforme

Se descubrió que tras un tiempo de 9 meses (desde la fecha de fabricación), la composición continúa cumpliendo las especificaciones del producto.

Ejemplo 4

15 Estabilidad de los rellenos de tejido blando

Se obtuvieron las siguientes formulaciones de AH esterilizadas (Muestras 1-6) para evaluación.

Muestra 1 (Comparativa): es una mezcla de 13,5 mg/g de AH libre, con 5,5 mg/g de hidroxipropil metil celulosa (HPMC).

ES 2 622 708 T3

Muestra 2 (Comparativa): contiene 5,5-6,5 mg/mL de AH de alto peso molecular (aproximadamente 4-6 MDa) y un grado de elasticidad (G') de aproximadamente 200.

5 Muestra 3: es un gel no comercial preparado a partir de partículas de gel distintas mezcladas con AH libre (80/20, p/p). Las partículas de AH (80%) se obtienen por desintegración de un gel de AH "sólido" fuertemente reticulado. Las partículas presentan formas y dimensiones diferentes (de varios micrómetros a varios mm).

Muestra 4: es una formulación de AH reticulado cohesivo. La muestra 4 tiene una concentración de AH de aproximadamente 18 mg/mL, menos de un 6% de reticulación, un G' de aproximadamente 60 y una relación de AH de peso molecular alto a peso molecular bajo de aproximadamente 95% a aproximadamente 5%, hasta aproximadamente 100% de AH de peso molecular alto.

10 Muestra 5: es una formulación de AH reticulado cohesivo. La muestra 5 tiene una concentración de AH de aproximadamente 24 mg/mL, aproximadamente un 6% de reticulación, un G' de aproximadamente 170 y una relación de AH de peso molecular alto a AH de peso molecular bajo de aproximadamente 95% a aproximadamente 5%, y aproximadamente 100% de AH de peso molecular alto.

15 Muestra 6: es una formulación de AH reticulado cohesivo. La muestra 6 tiene una concentración de AH de aproximadamente 20 mg/mL, aproximadamente un 5% de reticulación, un G' de aproximadamente 450 y una relación de AH de peso molecular alto a AH de peso molecular bajo de aproximadamente 10% a 90%.

Las Muestras 1-6 se prepararon como se indica a continuación:

20 Ensayo 1: se mezclaron individualmente aproximadamente 20 g de cada una de las Muestras 1-6 con una disolución de clorhidrato de lidocaína y se homogeneizaron. En este ensayo, durante la adición del clorhidrato de lidocaína, el pH del gel de muestra es sustancialmente neutro y no se ajusta, por ejemplo, con la adición de disolución de hidróxido sódico. A continuación las Muestras se rellenaron en jeringas y se autoclavaron.

Ensayo 2: se mezclaron individualmente aproximadamente 20 g de cada una de las Muestras 1-6 con una disolución de clorhidrato de lidocaína, y el pH se ajustó a 7,2 usando una disolución de NaOH tal como se ha descrito antes en el Ejemplo 2. A continuación las Muestras se rellenaron en jeringas y se autoclavaron.

25 Ensayo 3: se mezclaron individualmente aproximadamente 20 g de cada una de las Muestras 1-6 con una cantidad equivalente de WFI para tener en cuenta el efecto de dilución. No se añadió lidocaína. A continuación las Muestras se rellenaron en jeringas y se autoclavaron.

30 Resultados: para cada una de las Muestras de los Ensayos 1-3 se llevaron a cabo medidas reológicas usando el equipo de determinación reológica descrito en el Ejemplo 3. Los resultados se muestran generalmente de forma gráfica en las Figuras 1-8 acompañantes. Las definiciones de los símbolos y las unidades de la Tabla 3 se aplican de forma general a las Figuras 1-8.

Tabla 3

Símbolo	Nombre	Unidades	Descripción
G'	Módulo elástico	Pa	Cuantifica el comportamiento de tipo sólido o la resistencia a una deformación permanente.
G''	Módulo viscoso	Pa	Cuantifica el comportamiento de tipo líquido o la resistencia a fluir.
(G''/G')	Tan Delta		(G''/G') es la relación del módulo viscoso y el módulo elástico y es útil para cuantificar el grado de elasticidad. Un valor por debajo de 1 significa que el fluido es más elástico, inversamente, un valor por encima de 1 significa que el fluido es más viscoso.

35 Como guía general, una Muestra estable que incluye lidocaína preparada según el Ensayo 1 o el 2 presentaría una viscosidad similar, cuando es sometida a cizalla a lo largo de un rango de frecuencias, a la de las Muestras preparadas según el Ensayo 3 que no contienen lidocaína.

40 Se observó que ninguna de las Muestras (comparativas) 1 y 2 con lidocaína era estable en autoclave y como resultado se degradan y se hacen sustancialmente menos viscosas tanto en el Ensayo 1 como en el Ensayo 2. Las Figuras 1 y 2 ilustran en particular que las Muestras (comparativas) 1 y 2 presentan una viscosidad reducida, y por tanto son menos estables frente a la cizalla cuando el producto se prepara con lidocaína, en comparación con el producto sin lidocaína, incluso cuando la Muestra fue preparada según el Ensayo 2 en donde se lleva a cabo un ajuste del pH.

5 Se observó que la Muestra 3 era estable en autoclave en el Ensayo 2 pero no era estable en el Ensayo 1, y se observó que las Muestras 4 y 5 eran estables en autoclave solo en el Ensayo 2. Las Figuras 3, 4 y 5 ilustran que las Muestras 3, 4 y 5 no fueron estables cuando se prepararon con lidocaína y sin ajuste del pH, pero fueron estables cuando se añadió lidocaína y se ajustó adecuadamente el pH. La Figura 6 ilustra que la Muestra 5 preparada con lidocaína y con control del pH tenía propiedades viscosas y elásticas similares (G''/G') a las de la Muestra 5 preparada sin lidocaína. Cuando la Muestra 5 se preparó con lidocaína y sin ajustar el pH, las propiedades viscosas y elásticas cambiaron.

Ejemplo 5

Cinética de liberación

10 El siguiente ejemplo ilustra la cinética de liberación de la lidocaína desde los geles de AH cohesivos según la presente descripción. El objetivo del Ejemplo es demostrar que la lidocaína contenida en los geles de AH según la presente descripción es liberada sin restricción desde los geles cuando se colocan en la piel.

15 Se llevó a cabo una diálisis para los diferentes periodos de tiempo (se colocaron aproximadamente 10 g de gel en una bolsa de diálisis pequeña y después se colocaron en 30 g de agua). Después de que cada diálisis fuera detenida a un tiempo dado, el gel fue homogenizado con una espátula y se determinó la cantidad de lidocaína mediante un método UV. La concentración final del baño de diálisis coincidió con la concentración teórica de lidocaína, lo que indica la liberación sin restricción de lidocaína desde el gel.

20 La Tabla 3 ilustra la concentración de lidocaína en % (p/p), la corrección del valor y la determinación del % de lidocaína liberada. Adicionalmente, la Figura 9 ilustra gráficamente los resultados tabulados a continuación en la Tabla 3. En la Figura 9 se indica la concentración de lidocaína de equilibrio teórica que existiría si la lidocaína fuera retenida en el gel o si fuera liberada sin restricción. Tal como se observa gráficamente, los datos sugieren que la lidocaína se libera sin restricción desde el gel.

Tabla 3

	MMA3056	MMA4031-EC6	MMA4031-EC2	MMA4031-EC3	MMA4031-EC4	MMA4031-EC5	MMA4029-EC7
Tiempo de diálisis (h)	0 h	1 h 30 min	5 h	7 h	23 h	48 h	72 h
[lidocaína] (%)	0,29	0,20	0,16	0,15	0,08	0,07	0,07

25 El perfil de concentración de lidocaína en la Muestra 5 del Ejemplo 4 (Figura 9) muestra que con el tiempo alcanza un equilibrio que se corresponde con la liberación sin restricciones de la lidocaína. Este estudio *in vitro* demuestra que la lidocaína se libera sin restricción desde el gel y no queda retenida en el gel una vez implantado.

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar una composición de relleno de tejido blando, método que comprende las etapas de:
- 5 proporcionar un componente de ácido hialurónico reticulado con al menos un agente reticulante seleccionado del grupo que consiste en 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), 1,2- bis(2,3-epoxipropoxi)etileno y 1-(2,3-epoxipropil)-2,3-epoxiciclohexano, o combinaciones de los mismos;
- ajustar el pH de dicho componente de ácido hialurónico a un pH ajustado por encima de 7,2; y
- añadir una disolución que contiene al menos un agente anestésico a dicho componente de ácido hialurónico que tiene dicho pH ajustado para obtener una composición de relleno de tejido blando,
- en donde el al menos un agente anestésico es HCl de lidocaína.
- 10 2. El método de la reivindicación 1, en donde la composición de relleno de tejido blando es cohesiva.
3. El método de la reivindicación 1, en donde dicho pH ajustado está por encima de 7,5.
4. El método de la reivindicación 1 que además comprende la etapa de homogeneizar el componente de ácido hialurónico durante o después de la etapa de añadir dicha disolución que contiene dicho agente anestésico.
- 15 5. El método de la reivindicación 1, en donde dicha etapa de proporcionar un componente de ácido hialurónico comprende proporcionar material de hialuronato sódico no reticulado seco e hidratar dicho material de hialuronato sódico no reticulado seco en una disolución alcalina para obtener un gel de hialuronato sódico no reticulado alcalino.
6. El método de la reivindicación 5, en donde dicho gel de hialuronato sódico no reticulado alcalino tiene un pH superior a 8,0.
- 20 7. El método de la reivindicación 6, en donde dicho gel de hialuronato sódico no reticulado alcalino tiene un pH superior a 10.
8. Un método para preparar una composición de relleno basada en ácido hialurónico cohesiva, método que comprende las etapas de:
- proporcionar material de hialuronato sódico no reticulado seco e hidratar dicho material de hialuronato sódico no reticulado seco en una disolución alcalina para obtener un gel de hialuronato sódico no reticulado alcalino;
- 25 reticular dicho gel de hialuronato sódico no reticulado con BDDE para formar una composición de ácido hialurónico alcalina reticulada con un pH por encima de 7,2;
- añadir una disolución que contiene HCl de lidocaína a dicho componente de ácido hialurónico que tiene dicho pH ajustado para obtener dicha composición de relleno basada en AH;
- 30 homogenizar dicha composición de relleno basada en AH, formando de este modo una composición de relleno basada en ácido hialurónico homogenizada; y
- esterilizar dicha composición de relleno basada en AH homogenizada, formando de este modo dicha composición de relleno basada en AH cohesiva,
- en donde dicha composición de relleno basada en AH cohesiva tiene una fuerza de extrusión de entre 10 N y 13 N, a una velocidad de extrusión de 12,5 mm/minuto, y tiene una viscosidad de entre 5 Pa*s y 450 Pa*s, determinada a
- 35 5 Hz.

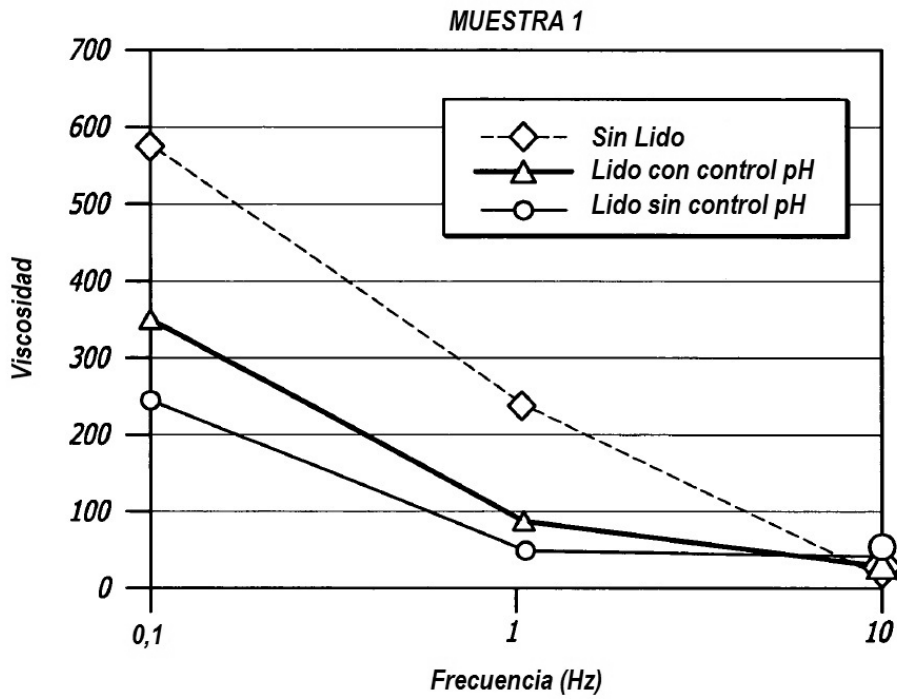


FIG. 1

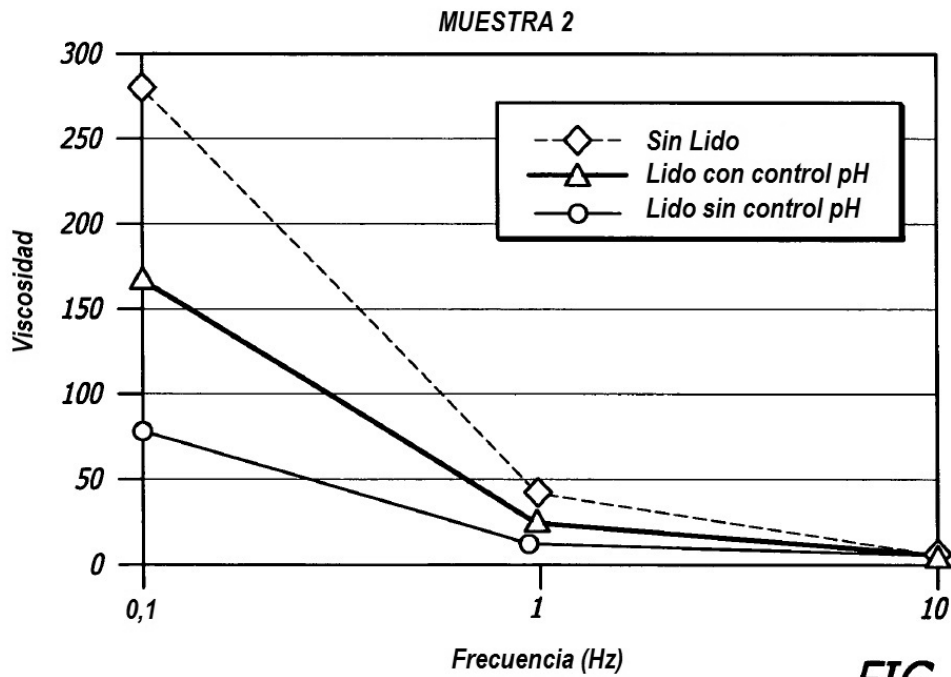


FIG. 2

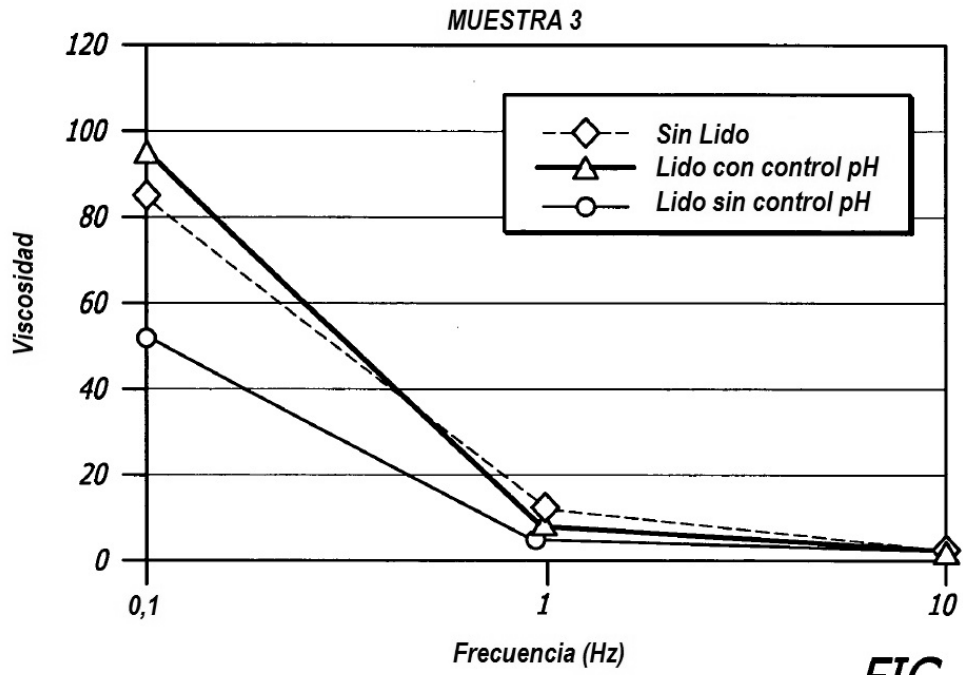


FIG. 3

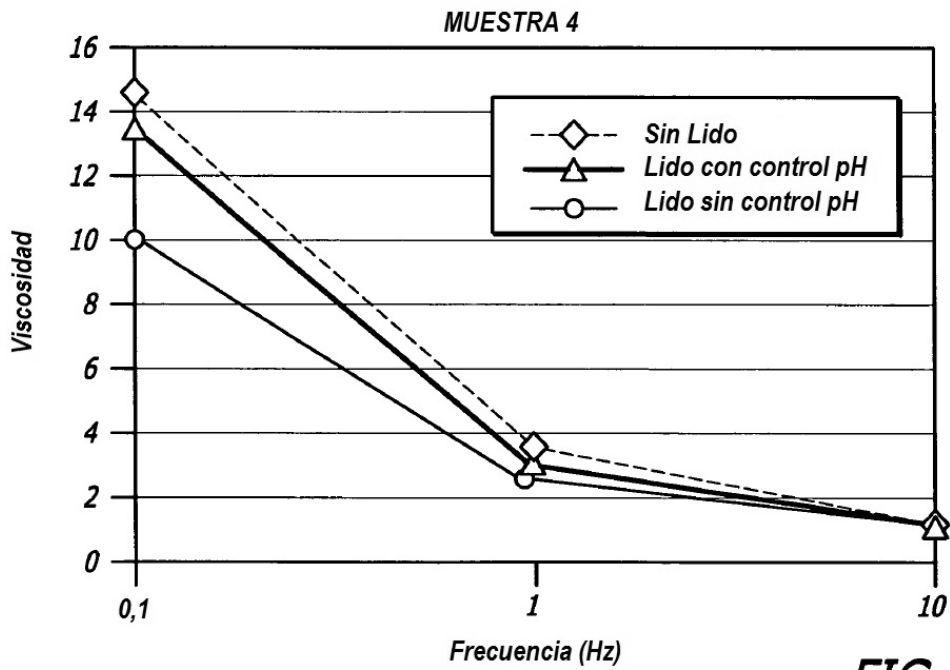


FIG. 4

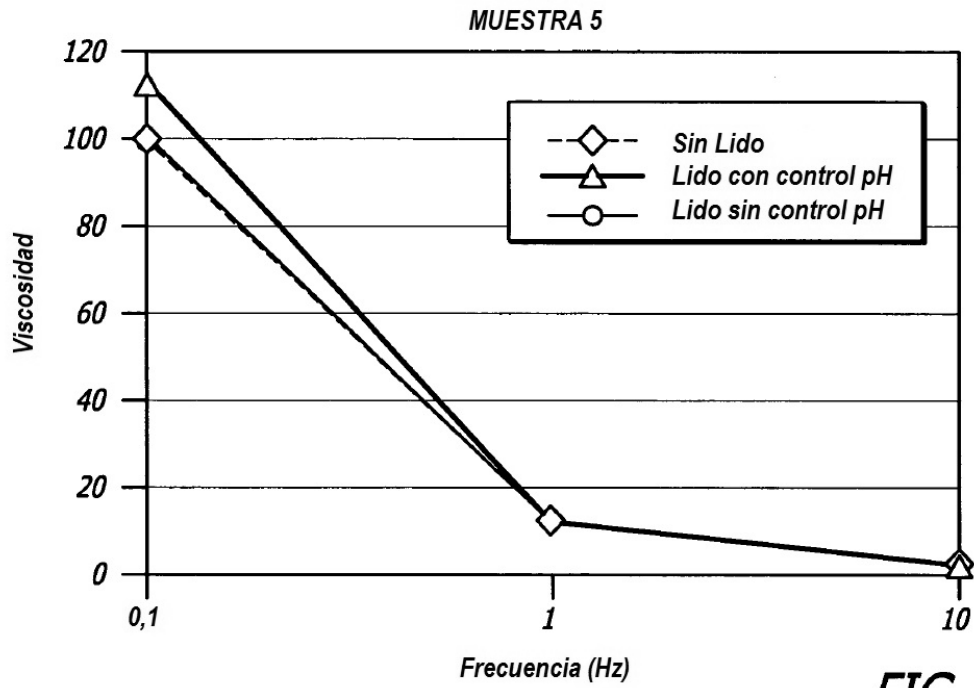


FIG. 5

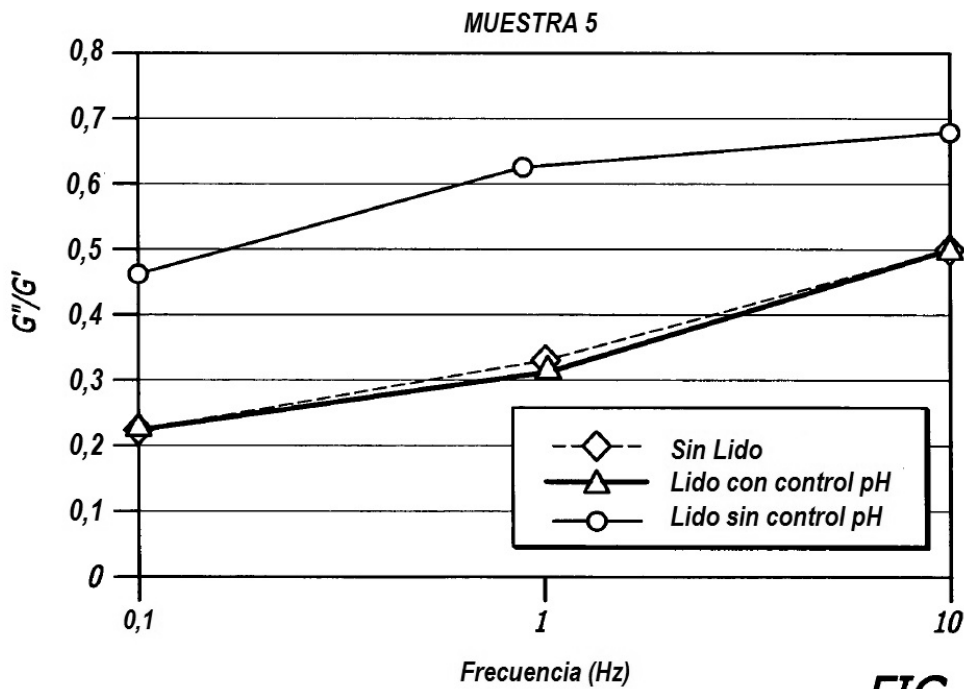


FIG. 6

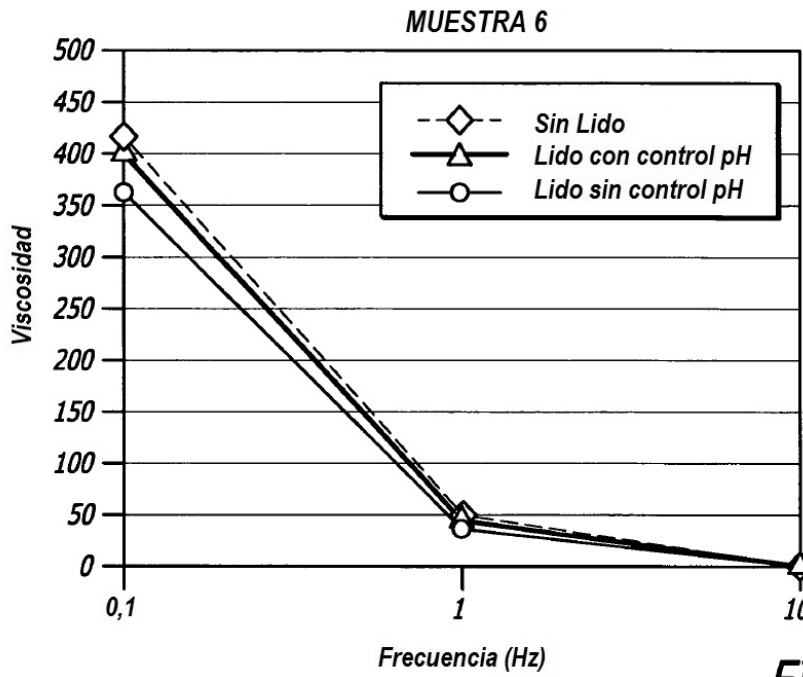


FIG. 7

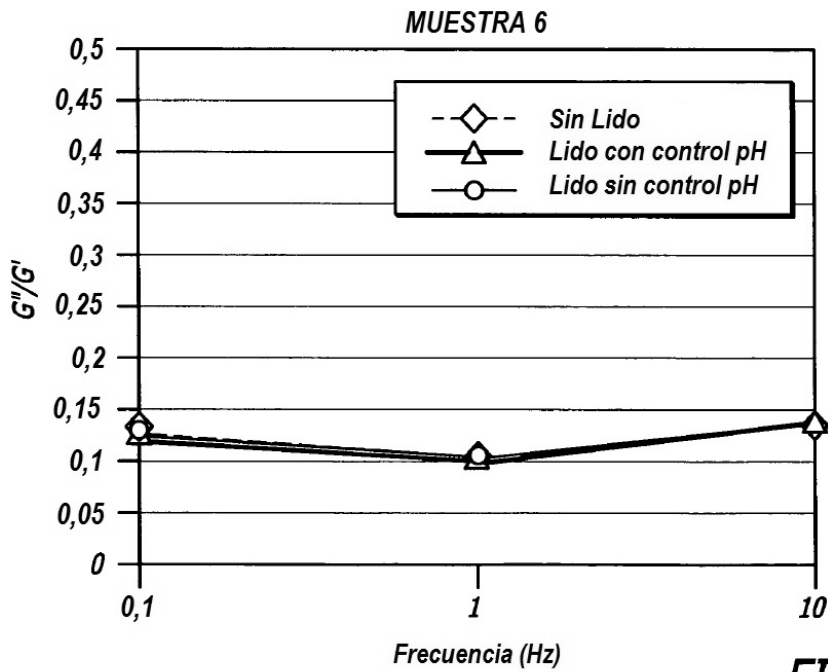


FIG. 8

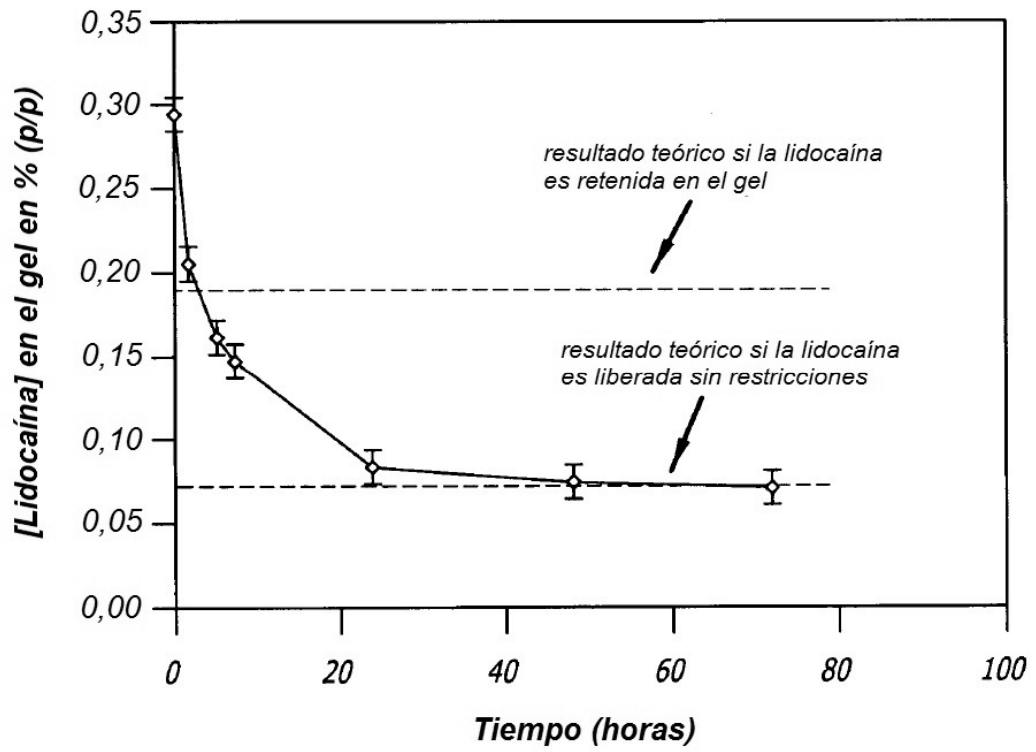


FIG. 9