

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 731**

51 Int. Cl.:

A61L 27/20 (2006.01)

A61L 27/26 (2006.01)

A61L 27/52 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.11.2015 PCT/EP2015/002270**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.05.2016 WO16074794**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2015 E 15797847 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.09.2018 EP 3218023**

54 Título: **Relleno dérmico basado en ácido hialurónico reticulado y lubricante de carboximetil celulosa**

30 Prioridad:

13.11.2014 EP 14003829
05.02.2015 EP 15000338

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.11.2018

73 Titular/es:

MERZ PHARMA GMBH & CO. KGAA (100.0%)
Eckenheimer Landstrasse 100
60318 Frankfurt am Main, DE

72 Inventor/es:

HAGEDORN, NADINE;
STRAGIES, ROLAND y
VILLAIN, FRANCK

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 688 731 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

Relleno dérmico basado en ácido hialurónico reticulado y lubricante de carboximetil celulosa

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a composiciones de relleno dérmico inyectables en forma de un gel, que comprenden ácido hialurónico reticulado (HA), carboximetil celulosa (CMC) como se define en la reivindicación 1 y, opcionalmente, micropartículas tales como micropartículas de hidroxiapatita cálcica (CaHAP). Las composiciones de relleno dérmico inyectables tienen propiedades reológicas mejoradas, mientras al mismo tiempo tienen fuerzas de extrusión bajas. La presente invención se refiere además a un método para preparar tales composiciones de relleno dérmico inyectables y su uso para fines cosméticos y terapéuticos.

10 Antecedentes de la invención

Es un deseo habitual conseguir y conservar una apariencia joven como denominador común de la belleza. Con el tiempo, sin embargo, la piel comienza a perder su apariencia joven, especialmente en la cara. Los signos estéticos más habituales de envejecimiento facial incluyen la aparición de arrugas cutáneas, pliegues nasolabiales profundos, líneas de la región glabelar, líneas de marioneta, comisuras de la boca y arrugas periorales.

15 Estos cambios del envejecimiento se tratan a menudo mediante la inyección de rellenos dérmicos para incrementar el volumen del tejido. En la actualidad hay disponibles numerosos rellenos dérmicos, que se pueden clasificar en general en dos categorías. La primera categoría de rellenos proporciona un efecto a largo plazo creando volumen, e incluye rellenos tales como los rellenos de ácido hialurónico (HA) reticulado. La segunda categoría de rellenos proporciona un efecto a largo plazo induciendo una neocolagénesis. El ejemplo más conocido y usado ampliamente es Radiesse®, que comprende microesferas de hidroxiapatita cálcica, un gel portador de carboximetil celulosa (CMC) y glicerina.

20 Los rellenos dérmicos ideales deberían ser biocompatibles, tener un perfil bajo de efectos adversos, y proporcionar una persistencia razonablemente duradera (duración), una capacidad eficaz de creación de volumen y facilidad de inyección. Los rellenos basados en HA ofrecen muchas de estas propiedades deseables de los rellenos dérmicos. Debido a que HA se halla en casi todas las especies, no tiene antigenicidad y exhibe una tolerancia excelente. Además, la reticulación de HA permite la producción de productos de HA reticulados que tienen una buena capacidad de estiramiento y son estables durante más de 12 meses, hasta dos años.

25 Una desventaja importante de los rellenos basados en HA, sin embargo, es que a menudo son difíciles de inyectar. Por esta razón, habitualmente se añade HA sin reticular (HA "libre") como lubricante para facilitar la inyección. Desafortunadamente, la disminución deseada de la fuerza de extrusión provocada por la adición de HA libre compromete otras propiedades físicas deseables del gel. En particular, disminuye el parámetro G prima (G'), lo que da como resultado un efecto de creación de volumen reducido, y disminuye la viscosidad dinámica.

30 Radiesse® es un relleno dérmico que también proporciona las características deseables de un relleno dérmico, que incluyen una duración aceptable, biocompatibilidad, y una buena capacidad de crear volumen. Cuando se inyecta, las pequeñas microesferas de hidroxiapatita cálcica actúan como una estructura que estimula la formación de tejido nuevo similar al del medio circundante. Sin embargo, debido a que el portador de CMC de Radiesse® se absorbe rápidamente *in vivo* (en aproximadamente 3 meses), existe una disminución potencial y transitoria del efecto de relleno, ya que la neocolagénesis puede no estar sincronizada con la eliminación de CMC. Además, no existe un remedio (agente de inversión) disponible para CMC que permita una corrección parcial tras la aplicación del relleno.

40 La patente europea nº 1 080 698, presentada en 1993, describe un material inyectable para el aumento de tejidos blandos que comprende partículas cerámicas finamente divididas (p.ej., CaHA) y cubre, entre otros, Radiesse®. Además, el documento WO 2014/056723 describe un gel viscoelástico que comprende HA reticulado a una concentración de entre 1% y 4% (p/v) y partículas de hidroxiapatita a una concentración de entre 10% y 70% (p/v).

Objetivo de la invención

45 En vista de lo anterior, el objetivo de la presente invención es proporcionar una composición de relleno dérmico de larga duración que tenga propiedades reológicas mejoradas, que al mismo tiempo sea fácilmente inyectable.

Sumario de la invención

50 El anterior objetivo se resuelve mediante la provisión de una composición de relleno dérmico inyectable en forma de un gel que utiliza carboximetil celulosa como lubricante. Este nuevo tipo de relleno dérmico ofrece una buena duración, es fácilmente inyectable y tiene propiedades reológicas mejoradas (es decir, G prima (G') y viscosidad dinámica), lo que da como resultado una excelente capacidad de crear volumen.

En un primer aspecto, la presente invención proporciona una composición de relleno dérmico inyectable en forma de un gel, que comprende ácido hialurónico (HA) reticulado (p.ej., reticulado con BDDE) y carboximetil celulosa (CMC).

El HA reticulado está presente normalmente a una concentración del 0,1% al 4,0% peso/volumen (p.ej., 0,5% al 4,0% o 1,0% al 4,0% peso/volumen) y proporciona una matriz reticulada, mientras la CMC está presente a una concentración del 1,0% al 25% volumen/volumen y se añade como fase lubricante/lubricante. En una realización preferida, la composición de relleno dérmico inyectable comprende además micropartículas biocompatibles reabsorbibles, en particular micropartículas de hidroxapatita cálcica.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona un kit que comprende la composición de relleno dérmico inyectable según el primer aspecto de la invención.

En un tercer aspecto, la presente invención proporciona un método para preparar una composición de relleno dérmico inyectable según el primer aspecto de la presente invención, que comprende las siguientes etapas:

- (a) proporcionar un gel de ácido hialurónico reticulado,
- (b) proporcionar un gel de carboximetil celulosa,
- (c) mezclar el gel de ácido hialurónico reticulado y el gel de carboximetil celulosa.

En un cuarto aspecto, la presente invención se refiere al uso de una composición de relleno dérmico inyectable según el primer aspecto de la invención o del kit según el segundo aspecto de la invención para aplicaciones cosméticas, tales como el tratamiento de las líneas faciales.

En un quinto aspecto, la presente invención proporciona una composición de relleno dérmico inyectable según el primer aspecto de la invención o un kit según el segundo aspecto de la invención para el uso en terapia, en particular para el uso en el tratamiento de la incontinencia urinaria de esfuerzo, reflujo vesicouretral, insuficiencia de las cuerdas vocales, y medialización de las cuerdas vocales.

En un sexto aspecto, la presente invención proporciona un método para sustituir o rellenar un tejido biológico o para incrementar el volumen de un tejido biológico, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de la composición de relleno dérmico inyectable según el primer aspecto de la invención.

Las realizaciones particulares de la presente invención se exponen en las reivindicaciones adjuntas.

Otros objetivos, ventajas y características de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica a la vista de la siguiente descripción detallada de la invención, las figuras y los ejemplos.

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 muestra la fuerza de extrusión de una composición de relleno dérmico de HA/CMC según la presente invención (gel MHAG con un 15% (v/v) de CMC; barra gris) y una composición de relleno dérmico de HA/HA libre (gel MHAG con un 15% (v/v) de HA libre; barra rayada) en comparación con un gel de "HA solamente" (gel MHAG; barra negra).

La FIG. 2 muestra el módulo de elasticidad (G') de una composición de relleno dérmico de HA/CMC según la presente invención (gel MHAG con un 15% (v/v) de CMC; barra gris) y una composición de relleno dérmico de HA/HA libre (gel MHAG con un 15% (v/v) de HA libre; barra rayada) en comparación con un gel de "HA solamente" (gel MHAG; barra negra).

La FIG. 3 muestra la viscosidad de una composición de relleno dérmico de HA/CMC según la presente invención (gel MHAG con un 15% (v/v) de CMC; barra gris) y una composición de relleno dérmico de HA/HA libre (gel MHAG con un 15% (v/v) de HA libre; barra rayada) en comparación con un gel de "HA solamente" (gel MHAG; barra negra).

La FIG. 4 muestra la fuerza de extrusión de una composición de relleno dérmico de HA/CaHAP/CMC según la presente invención (gel MHAI con un 10% (v/v) de CMC; barra negra) en comparación con un gel de HA/CaHAP (MHAI; barra gris), un gel de HA/CaHAP/HA libre (MHAI con un 10% de HA libre; barra rayada), y una dilución del gel MHAI (MHAI con HA diluido (15 mg/ml de HA); barra blanca).

La FIG. 5 muestra el módulo de elasticidad (G') de una composición de relleno dérmico de HA/CaHAP/CMC según la presente invención (MHAI con un 10% (v/v) de CMC; barra negra) en comparación con un gel de HA/CaHAP (MHAI; barra gris), un gel de HA/CaHAP/HA libre (MHAI con un 10% de HA libre; barra rayada), y una dilución del gel MHAI (MHAI con HA diluido (15 mg/ml de HA); barra blanca).

La FIG. 6 muestra la viscosidad de una composición de relleno dérmico de HA/CaHAP/CMC según la presente invención (MHAI con un 10% (v/v) de CMC; barra negra) en comparación con un gel de HA/CaHAP (MHAI; barra gris), un gel de HA/CaHAP/HA libre (MHAI con un 10% de HA libre; barra rayada), y una dilución del gel MHAI (MHAI con HA diluido (15 mg/ml de HA); barra blanca).

La FIG. 7 muestra la influencia de diferentes concentraciones de CMC sobre la fuerza de extrusión de un relleno dérmico de HA/CaHAP (MHAI; barra negra), un gel de HA/CaHAP con un 5% de CMC (MHAI con un 5% de CMC;

barra gris), un gel de HA/CaHAP con un 10% de CMC (MHAI con un 10% de CMC; barra rayada) y un gel de HA/CaHAP con un 15% de CMC (MHAI con un 15% de CMC; barra blanca).

Descripción detallada de la invención

5 El relleno dérmico inyectable de la presente invención proporciona varias ventajas respecto de los rellenos conocidos, que incluyen una excelente biocompatibilidad, persistencia mejorada, retención de humedad elevada, ausencia de inmunogenicidad, y absorción segura por el cuerpo, a la vez que se mantienen las propiedades mecánicas y reológicas deseables para el uso como relleno dérmico.

10 En particular, los inventores de la presente invención han descubierto que la adición de una pequeña cantidad de carboximetil celulosa (CMC) a un gel de HA reticulado conduce sorprendentemente a una composición de relleno dérmico de larga duración que exhibe una baja fuerza de extrusión, a la vez que tiene propiedades mecánicas mejoradas (es decir, módulo de elasticidad (G') elevado y viscosidad dinámica elevada), lo que proporciona una capacidad elevada de creación de volumen. En otras palabras, se descubrió de manera inesperada que el relleno dérmico según la presente invención proporciona un equilibrio óptimo de duración, capacidad de estiramiento y facilidad de inyección.

15 Además, en una realización preferida de la presente invención, en la que la composición de relleno dérmico contiene además micropartículas (p.ej., micropartículas de hidroxiapatita cálcica (CaHAP)), las ventajas de Radiesse (es decir, la neocolagénesis debida a las partículas de hidroxiapatita cálcica) son combinables con la ventaja de una reversibilidad/corregibilidad parcial debido a la posibilidad de usar una enzima hialuronidasa para degradar y disolver el portador de HA reticulado. Otra ventaja es que el portador de HA reticulado durará más tiempo que el portador de CMC sin reticular actualmente usado, p.ej., en Radiesse®. Esto evitará la separación conocida en el comportamiento/efecto de creación de volumen, que se observa entre el momento de disolución de CMC y la inducción de la neocolagénesis mediante las micropartículas.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a una composición de relleno dérmico inyectable en forma de un gel, que comprende ácido hialurónico reticulado y carboximetil celulosa.

25 Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "relleno dérmico" se refiere en general a un material o composición diseñada para añadir volumen a áreas con deficiencia de tejido blando. La expresión "relleno dérmico", tal como se usa en la presente memoria, tiene el mismo significado que, y se usa de manera intercambiable con, la expresión "relleno de tejido blando". Es decir, no se debería interpretar que la expresión "relleno dérmico" imponga ninguna limitación con respecto a la localización y tipo de inyección, y en general abarca usos a múltiples niveles por debajo de la dermis, por ejemplo de manera submuscular por encima del periostio y en el plano subcutáneo. En el significado de la presente invención, la expresión "tejido blando" se refiere en general a tejidos que conectan, sostienen, o rodean otras estructuras y órganos del cuerpo. En la presente invención, los tejidos blandos incluyen, por ejemplo, músculos, tendones, (bandas de fibra que conectan los músculos a los huesos), tejidos fibrosos, grasa, vasos sanguíneos, nervios y tejidos sinoviales (tejidos alrededor de las articulaciones).

30 Según la presente invención, la composición de relleno dérmico inyectable es un gel. El término "gel", tal como se usa en la presente memoria, se refiere en general a un material que tiene una fluidez a temperatura ambiente entre la de un líquido y un sólido. Además, el término "gel" pretende significar un material capaz de absorber agua (es decir, un "hidrogel"). En la presente invención, la composición de relleno dérmico inyectable comprende en general un vehículo líquido fisiológicamente aceptable, tal como un tampón isotónico apirógeno, en particular, una solución salina fisiológica que preferiblemente está tamponada.

Además, la composición de relleno dérmico de la presente invención es "inyectable". Esto significa que la composición de relleno dérmico es adecuada para inyección en la piel u otro tejido para administrar la composición de relleno dérmico en el sitio objetivo deseado. Una composición "inyectable", dentro del significado de la presente invención, se puede administrar por medio de jeringas en condiciones normales a presión normal.

45 Según la presente invención, la concentración de la carboximetil celulosa está entre un 1,0% y 25,0%, más preferiblemente entre un 5,0% y 20%, y lo más preferiblemente entre un 10% y 15% volumen/volumen. En la presente invención, se usa en general como lubricante o fase de lubricación. Una carboximetil celulosa adecuada para el uso en la presente memoria puede tener un peso molecular en el intervalo de $5,0 \times 10^4$ Da (CMC de baja viscosidad) a $1,5 \times 10^6$ Da (CMC de alta viscosidad), por ejemplo en el intervalo de $9,0 \times 10^4$ Da a $7,0 \times 10^5$ Da, en particular en el intervalo de $1,5 \times 10^5$ a $5,0 \times 10^5$ Da.

50 Además, una carboximetil celulosa adecuada para el uso en la presente memoria se puede seleccionar de una carboximetil celulosa de baja viscosidad que tiene una viscosidad de 75 mPa·s a 750 mPa·s, tal como se mide con un viscosímetro rotacional Brookfield (modelo LVT) a 25 °C y una velocidad rotacional de 60 rpm con husillos de tamaño n° 1 o n° 2 mediante el uso de una disolución acuosa al 2%, una carboximetil celulosa de viscosidad media que tiene una viscosidad de 750 mPa·s a 4.000 mPa·s, tal como se mide con un viscosímetro rotacional Brookfield (modelo LVT) a 25 °C y una velocidad rotacional de 30 rpm con husillos de tamaño n° 2 o n° 3 mediante el uso de una disolución acuosa al 2%, y una carboximetil celulosa de alta viscosidad que tiene una viscosidad de 4.000 mPa·s a 25.000 mPa·s, tal como se mide con un viscosímetro rotacional Brookfield (modelo LVT) a 25 °C y una

velocidad rotacional de 30 rpm con husillos de tamaño nº 3 o 4 mediante el uso de una disolución acuosa al 1%.

Además, la carboximetil celulosa tiene en general un grado de sustitución de 0,20 a 1,50, preferiblemente 0,40 a 1,10, más preferiblemente 0,60 a 0,95, y lo más preferiblemente 0,70 a 0,90. Tal como se usa en la presente memoria, el "grado de sustitución" (grado de eterificación), tal como se usa en la presente memoria, se define como sigue: $[C_6H_7O_2(OH)_x(OCH_2COO_m)_y]_n$, en el que n es el grado de polimerización (p.ej., 450 a 4.000), y $x + y = 3$, en el que y es el grado de sustitución. El grado de sustitución se puede determinar como se conoce en la técnica (p.ej., según el método descrito en el Códex Enológico Internacional COEI-1-CMC:2009).

El ácido hialurónico está presente en la composición a una concentración preferiblemente del 0,1% al 5,0% o 0,2% al 4,5% o 0,3% al 4,0% o 0,4% al 4,0% o 0,5% al 4,0% o 0,7% al 4,0% o 1,0% al 4,0%, más preferiblemente 0,5% al 3,0% o 1,0% al 3,0% o 1,5% al 3,0% o 2,0% al 3,0%, lo más preferiblemente 1,0% al 2,5% o 2,0% al 2,5% peso/volumen. En la presente invención, el HA reticulado forma una "matriz". Tal como se usa en la presente memoria, el término "matriz" pretende significar una red de polisacáridos, reticulados o sin reticular, en forma de una disolución o gel. Además, la expresión "ácido hialurónico" o "HA", tal como se usa en la presente memoria, significa ácido hialurónico, hialuronato, y cualquier sal de hialuronato tal como hialuronato sódico.

En el contexto de la presente invención, el ácido hialurónico reticulado no se limita de ninguna manera, e incluye ácido hialurónico reticulado preparado a partir de un único ácido hialurónico o a partir de dos o más ácidos hialurónicos que difieren en su peso molecular (véanse, p.ej., los documentos US 2010/0316683 A1 o WO 2013/185934 A1). Además, dentro del alcance de la presente invención, el ácido hialurónico reticulado puede formar un gel "polidensificado" que se caracteriza por una variación del grado de reticulación en el gel, es decir, un gel "polidensificado" tiene (al menos) dos niveles de densidad diferentes, con partes más densas (mayor grado de reticulación) y partes menos densas (menor grado de reticulación).

Los geles polidensificados se pueden preparar, por ejemplo, mediante una primera reacción de reticulación para reticular un/varios primer(os) polisacárido(s), seguido de una segunda reacción de reticulación para reticular un/varios segundo(s) polisacárido(s) para formar un gel reticulado doble. Dicho(s) primer(os) y dicho(s) segundo(s) polisacárido(s) puede(n) ser independientemente, por ejemplo, el mismo ácido hialurónico o dos ácidos hialurónicos diferentes que difieren en su peso molecular medio (p.ej., un ácido hialurónico de bajo peso molecular y uno de alto peso molecular). El proceso de reticulación doble (tecnología de reticulación dinámica) se conoce en la técnica y se describe, por ejemplo, en el documento EP 1 711 552 B1.

En la presente invención, el ácido hialurónico reticulado se puede preparar mediante la reticulación de un único ácido hialurónico o mediante la reticulación de un primer ácido hialurónico y un segundo ácido hialurónico, y, opcionalmente, al menos un ácido hialurónico adicional, en el que el primer, segundo y al menos un ácido hialurónico adicional difieren en sus pesos moleculares medios.

Preferiblemente, dicho ácido hialurónico único tiene un peso molecular medio de $0,1 \times 10^6$ a $4,0 \times 10^6$ Da o $0,3 \times 10^6$ a $4,0 \times 10^6$ Da o $0,5 \times 10^6$ a $4,0 \times 10^6$ Da, en particular $1,0 \times 10^6$ a $3,0 \times 10^6$ Da o $1,5 \times 10^6$ a $2,5 \times 10^6$ Da. Dicho primer ácido hialurónico tiene preferiblemente un peso molecular medio de $1,0 \times 10^5$ Da a menos de $1,0 \times 10^6$ Da, más preferiblemente $3,0 \times 10^5$ Da a $9,0 \times 10^5$ Da, y lo más preferiblemente $5,0 \times 10^5$ Da a $8,0 \times 10^5$ Da. Dicho segundo ácido hialurónico tiene normalmente un peso molecular medio mayor de $1,0 \times 10^6$ Da hasta $5,0 \times 10^6$ Da, en particular entre $1,5 \times 10^6$ Da y $4,0 \times 10^6$ Da, y preferiblemente entre $2,0 \times 10^6$ Da y $3,0 \times 10^6$ Da. La proporción en peso del primer HA respecto del segundo HA en la composición de relleno dérmico inyectable de la presente invención no está limitada, y puede oscilar, por ejemplo, de 0,001:99,999 a 99,999:0,001, preferiblemente de alrededor de 70:30 a alrededor de 99,9:0,1, y lo más preferiblemente de alrededor de 90:10 a alrededor de 99,0:1,0.

Se pueden aplicar diversos métodos en la presente memoria para determinar el peso molecular de HA, tal como medidas de la viscosidad intrínseca (p.ej., según la Farmacopea China, 2ª revisión, 2006), electroforesis capilar (CE) (p.ej., según Kinoshita et al., Biomed. Chromatogr., 2002, 16:141-45), cromatografía de permeabilidad en gel de alto rendimiento (HPGPC) (p.ej., según Kim et al., Food Chem., 2008, 109: 63-770), y dispersión de luz láser multiángulo combinada con cromatografía de exclusión por tamaño (SEC-MALLS) (p.ej., según Hokputsa et al., Eur. Biophys. J. Biophys. Lett., 2003, 32:450-456).

Preferiblemente, la composición de relleno dérmico inyectable según la presente invención se reticula con BDDE (1,4-butanodiol diglicidil éter). El ácido hialurónico reticulado con BDDE puede tener un grado de modificación, expresado como la proporción de la suma de los reticuladores de BDDE reticulados de manera simple y doble respecto de la suma de unidades de disacárido de ácido hialurónico del 0,5% al 25%, preferiblemente 1,0% al 15%, más preferiblemente 2,0% al 10%, y lo más preferiblemente 3,0% al 8,0% o 4,0% al 7%.

El grado de modificación se puede determinar mediante RMN según los métodos conocidos en la técnica (Edsman et al., Gel Properties of Hyaluronic Acid Dermal Fillers, Dermatol. Surg. 2012, 38:1170-1179; Guarise et al., SEC determination of cross-link efficiency in hyaluronan fillers, Carbohydrate Polymers 2012, 88:428-434; Kenne et al., Modification and cross-linking parameters in hyaluronic acid hydrogels - Definitions and analytical methods, Carbohydrate Polymers 2013, 91:410-418).

En resumen, los geles dializados y esterilizados se degradan antes de llevar a cabo la medición de RMN. La

degradación se puede llevar a cabo mediante condroitinasa AC (Edsman *et al.*, anteriormente mencionado; Kenne *et al.*, anteriormente mencionado), NaOH (Guarise *et al.*, anteriormente mencionado), adición de hialuronidasa (p.ej., 150 U de hialuronidasa ovina a 1 g de gel) o mediante incubación a 90 °C durante al menos 35 h. Después se liofilizan las disoluciones obtenidas, se disuelven en D₂O, y se homogeneizan bien.

- 5 La medida de RMN se puede llevar a cabo, p.ej., a 500 MHz, en un pulso de 20 grados con varias repeticiones a temperatura ambiente para recibir un espectro con la resolución adecuada. Según la bibliografía, el grado de modificación (MoD) se determina calculando la proporción de las señales de N-acetilo de HA respecto de las señales de metileno de BDDE. Para N-acetilo de HA, las señales cruciales se encuentran a aproximadamente 2,0 ppm y a alrededor de 1,6 ppm para BDDE cuando se solubiliza en D₂O. Para calcular el grado de modificación, se identificaron los valores integrales, y es necesario tener en cuenta la proporción de protones de 3H de N-acetilo (CH₃) respecto de 4H de metileno (CH₂CH₂), según la bibliografía (Edsman *et al.*, anteriormente mencionado, y Kenne *et al.*, anteriormente mencionado).

- 10 Según una realización preferida de la presente invención, la composición de relleno dérmico inyectable comprende además micropartículas biocompatibles reabsorbibles. El término "micropartículas", tal como se usa en la presente memoria, se refiere en general a partículas sustancialmente redondeadas o esféricas. Además, las micropartículas tienen preferiblemente un diámetro medio de 5 µm a 500 µm, más preferiblemente 10 µm a 200 µm, especialmente preferiblemente 15 µm a 100 µm o 20 µm a 75 µm, y lo más preferiblemente 25 µm a 45 µm. En el contexto de la presente invención, el término "reabsorbible" se refiere en general a un material que se puede descomponer y absorber en un fluido tisular y/o corporal.

- 15 Las micropartículas preferiblemente están presentes en la composición a una concentración del 0,5% al 50% o 1,0% al 50%, más preferiblemente 1,0% al 40%, especialmente preferible 5,0% al 35%, en particular 15,0% al 30% o 20% al 25%, y lo más preferiblemente 25,0% al 35% volumen/volumen.

- 20 En el contexto de la presente invención, las micropartículas biocompatibles reabsorbibles pueden consistir en materiales basados en fosfato cálcico, materiales basados en alúmina, un polisacárido natural biodegradable o un derivado del mismo, o un polímero sintético biodegradable de poliéster, poliortoéster o polianhídrido.

- 25 La expresión "polisacárido natural", tal como se usa en la presente memoria, se refiere en general a un polisacárido que se da en la naturaleza. Tal como se usa en la presente memoria, un "derivado", cuando se usa con respecto a un polisacárido natural, se refiere a un polisacárido que deriva del polisacárido natural mediante una modificación química tal como carboxilación, eterificación, metilación, sulfonación, y similares. El término "biodegradable", tal como se usa en la presente memoria, se refiere en general a materiales que son capaces de ser descompuestos *in vivo* por los seres humanos, y no se debería considerar que estén limitados a un tiempo o duración de descomposición particular.

- 30 Los materiales basados en fosfato cálcico se pueden seleccionar de hidroxiapatita cálcica, fluoroapatita cálcica, cloroapatita cálcica, apatita de carbonato cálcico, fosfato tetracálcico, pirofosfato cálcico, fosfato tricálcico, y fosfato octacálcico. Preferiblemente, el material basado en fosfato cálcico es hidroxiapatita cálcica.

- 35 El polímero sintético biodegradable de poliéster, poliortoéster o polianhídrido puede ser un homopolímero o copolímero de glicolida, lactida, caprolactona, y p-dioxanona, o es carbonato de trimetileno, o un polímero de poli(hidroxi butirato) o poli(hidroxi valerato). Preferiblemente, el polímero sintético biodegradable de poliéster, poliortoéster o polianhídrido se selecciona de poli-ε-caprolactona, poliglicolidas, polilactidas, polidioxanona, poli(ácido láctico-co-glicólico), poli(glicolida-co-caprolactona), y poli(glicolida-co-carbonato de trimetileno), y lo más preferiblemente es poli-ε-caprolactona o polidioxanona.

- 40 Según la presente invención, la composición de relleno dérmico inyectable puede comprender además uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en polioles, vitaminas, aminoácidos, metales, antioxidantes, y sales minerales. Los polioles adecuados para el uso en la presente memoria incluyen, pero sin limitación, glicerina, manitol, sorbitol, propilen glicol, eritritol, xilitol, maltitol, y lactitol. Son especialmente adecuados para el uso en la presente memoria manitol y glicerina. Además, el poliol es preferiblemente glicol, opcionalmente en combinación con uno o más de los compuestos de poliol anteriormente mencionados, en particular manitol. El/los poliol(es) se puede(n) incluir, por ejemplo, en la composición de relleno dérmico inyectable en una concentración del 1% al 25% o 2% al 17% o 3% al 13% volumen/volumen, en particular en una concentración del 5% al 11% o 7% al 10% volumen/volumen.

- 45 Las vitaminas adecuadas incluyen vitamina C, vitamina E y vitaminas del grupo B, es decir, una o más de las vitaminas B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₇, B₉ y B₁₂. La concentración de vitamina C o de vitamina E es preferiblemente de alrededor de 0,01 mg/ml a alrededor de 10,0 mg/ml, más preferiblemente de alrededor de 0,1 mg/ml a alrededor de 5,0 mg/ml, y la concentración total de las vitaminas del grupo B es preferiblemente de alrededor de 0,01 mg/ml a alrededor de 10,0 mg/ml, más preferiblemente de alrededor de 0,1 mg/ml a alrededor de 5,0 mg/ml. Las vitaminas pueden estar presentes para estimular y mantener el metabolismo celular, y, por tanto, para estimular la producción de colágeno. Se prefiere especialmente para el uso en la presente memoria la vitamina C, vitamina E y vitamina B₆.

Además, la composición de relleno dérmico inyectable según la presente invención puede comprender además un

anestésico, en particular un anestésico local, preferiblemente lidocaína, a una concentración, por ejemplo, del 0,05%p al 5,0%p, 0,1%p al 4,0%p, 0,2%p al 3,0%p, 0,3%p al 2,0%p, o 0,4%p al 1,0%p.

5 También se contempla en la presente memoria que la composición de relleno dérmico inyectable puede incluir polímeros reticulados y/o sin reticular distintos de HA reticulado y CMC. En particular, la composición de relleno dérmico inyectable puede comprender además del 0,001% al 15%, en particular del 1% al 10% volumen/volumen de ácido hialurónico sin reticular. El peso molecular de dicho ácido hialurónico sin reticular es preferiblemente entre $3,0 \times 10^5$ Da y $4,0 \times 10^6$ Da, en particular entre $1,0 \times 10^6$ Da y $3,0 \times 10^6$ Da.

10 Otros polímeros reticulados o sin reticular, tales como sulfato de condroitina, queratano, sulfato de queratano, heparina, sulfato de heparina, celulosa y sus derivados, quitosano, carragenano, xantano y alginato, o una de sus sales, también se pueden incluir en la composición de relleno dérmico inyectable de la presente invención en cantidades bajas (p.ej., menos del 10%, normalmente menos del 5% o menos del 1% volumen/volumen). Sin embargo, también se contempla en la presente memoria que la composición de relleno dérmico inyectable carezca de cualquier polímero reticulado distinto del HA reticulado descrito en la presente memoria y/o que carezca de cualquier polímero sin reticular distinto de la CMC descrita en la presente memoria. En este contexto, el término "polímero", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier compuesto polimérico natural o sintético con unidades estructurales repetitivas, lo que incluye los polisacáridos tales como HA.

20 En una realización preferida de la presente invención, la composición de relleno dérmico inyectable según la presente invención, que incluye la composición que comprende micropartículas (p.ej., micropartículas de hidroxiapatita cálcica), comprende además un anestésico, preferiblemente lidocaína, y/o uno o más polioles descritos anteriormente. De manera especialmente preferida, la composición de relleno dérmico inyectable según la presente invención, que incluye la composición que comprende micropartículas de CaHAP, comprende además lidocaína y glicerina.

Además, según la presente invención, la composición de relleno dérmico inyectable puede tener una o más de las siguientes propiedades:

- 25 (i) un módulo elástico G' a una frecuencia (f) de 0,4 Hz y 25 °C de 50 Pa a 4.500 Pa, preferiblemente 100 Pa a 4.000 Pa, más preferiblemente 150 Pa a 2.500 Pa;
- (ii) una viscosidad a una frecuencia de 0,4 Hz y 25 °C de 20 Pa·s a 1.400 Pa·s, preferiblemente de 25 Pa·s a 1.000 Pa·s, más preferiblemente 30 Pa·s a 900 Pa·s; y
- (iii) una tangente de delta (G''/G') a una frecuencia de 0,4 Hz y 25 °C de 0,20 a 0,8, preferiblemente 0,25 a 0,6.

30 Además, la fuerza de extrusión para una composición de relleno dérmico inyectable según la presente invención que carece de micropartículas (p.ej., micropartículas de hidroxiapatita cálcica) está en general en el intervalo de 10 N a 30 N, tal como se mide a través de una aguja 25G x 5/8" (p.ej., Neoject) a una velocidad de extrusión de alrededor de 50 mm/min mediante el uso de una jeringa estándar de 1 ml (p.ej., una jeringa BD de 1,0 ml). La fuerza de extrusión para una composición de relleno dérmico inyectable según la presente invención con micropartículas (p.ej., micropartículas de hidroxiapatita cálcica) está en general en el intervalo de 35 N a 70 N, tal como se mide a través de una aguja 25G TW 3/4 (p.ej., Terumo K pack II) a una velocidad de extrusión de alrededor de 50 mm/min mediante el uso de una jeringa estándar de 1,5 ml (p.ej., una jeringa de plástico de 1,5 ml).

40 Además, la composición de relleno dérmico inyectable comprende normalmente un tampón, por ejemplo un tampón fosfato, para ajustar el pH. Debido a que la composición de relleno dérmico inyectable de la presente invención se destina a la inserción en el cuerpo humano, el pH está en general en el intervalo de 6,5 a 7,5, preferiblemente en el intervalo de 6,8 a 7,4. Además, la osmolalidad es preferiblemente de alrededor de 200 mOsmol/l a alrededor de 400 mOsmol/l, más preferiblemente alrededor de 280 mOsmol/l a alrededor de 330 mOsmol/l.

En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un kit que comprende la composición de relleno dérmico inyectable según el primer aspecto de la presente invención. El kit puede comprender además instrucciones de uso.

45 En un tercer aspecto, la presente invención se refiere a un método para preparar una composición de relleno dérmico inyectable según el primer aspecto de la presente invención, que comprende las siguientes etapas:

- (a) proporcionar un gel de ácido hialurónico reticulado,
- (b) proporcionar un gel de carboximetil celulosa,
- (c) mezclar el gel de ácido hialurónico reticulado y el gel de carboximetil celulosa.

50 El gel de ácido hialurónico reticulado proporcionado en la etapa (a) y/o el gel de carboximetil celulosa proporcionado en la etapa (b) comprende preferiblemente uno o más de los polioles mencionados anteriormente, en particular glicerina. De manera adicional o alternativa, también se puede añadir uno o más de los polioles mencionados anteriormente, en particular glicerina, en la etapa (c) o después de la etapa (c). Además, en la presente invención, las micropartículas se pueden suspender en el gel de carboximetil celulosa proporcionado en la etapa (b) o, de

manera alternativa, las micropartículas se pueden mezclar junto con el gel de ácido hialurónico reticulado y el gel de carboximetil celulosa en la etapa (c). Además, las micropartículas se pueden añadir a la mezcla obtenida en la etapa (c).

- 5 Preferiblemente, el gel de ácido hialurónico reticulado de la etapa (a) y/o el gel de carboximetil celulosa de la etapa (b) comprende un anestésico, p.ej. lidocaína. Más preferiblemente, el anestésico (p.ej., lidocaína) se añade en la etapa (c), o después de la etapa (c), a la mezcla obtenida en la etapa (c).

En un cuarto aspecto, la presente invención se refiere al uso de una composición de relleno dérmico inyectable según el primer aspecto de la presente invención o un kit según el segundo aspecto de la presente invención para aplicaciones cosméticas.

- 10 El uso según el cuarto aspecto incluye preferiblemente el tratamiento cosmético de arrugas y líneas de la piel (p.ej., líneas faciales y arrugas faciales), líneas de la región glabellar, pliegues nasolabiales, pliegues del mentón, líneas de marioneta, comisuras de la boca, arrugas periorales, patas de gallo, depresiones cutáneas, cicatrices, sienes, soporte subdérmico de las cejas, bolsas adiposas malares y bucales, surcos lagrimales, nariz, labios, mejillas, región perioral, región infraorbital, asimetrías faciales, líneas de la mandíbula, y mentón.

- 15 En un quinto aspecto, la presente invención se refiere a una composición de relleno dérmico inyectable según el primer aspecto de la presente invención para el uso en terapia. En particular, la composición de relleno dérmico inyectable según el primer aspecto de la presente invención se puede usar en el tratamiento de la incontinencia urinaria de esfuerzo, reflujo vesicouretral, insuficiencia de las cuerdas vocales, y medialización de las cuerdas vocales.

- 20 En un sexto aspecto, la presente invención se refiere a un método para sustituir o rellenar un tejido biológico o incrementar el volumen del tejido biológico, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de la composición de relleno dérmico inyectable según el primer aspecto de la presente invención.

- 25 En general, la composición de relleno dérmico inyectable se administra mediante inyección, tal como mediante inyección subcutánea o intradérmica. Por ejemplo, la composición se puede inyectar de manera intradérmica o subcutánea mediante el uso de la técnica de punción en serie. La expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de la composición de relleno dérmico inyectable suficiente para conseguir resultados cosméticos (estéticos) o terapéuticos beneficiosos o deseados. Un "sujeto" en el sentido de la presente invención es cualquier individuo o paciente que necesita el tratamiento de una afección o enfermedad particular. En el marco de la presente invención, el sujeto normalmente es un ser humano.

- 30 La composición se administra preferiblemente para tratar una afección cosmética, tal como el tratamiento de arrugas o líneas de la piel (p.ej., líneas faciales y arrugas faciales), líneas de la región glabellar, pliegues nasolabiales, pliegues del mentón, líneas de marioneta, comisuras de la boca, arrugas periorales, patas de gallo, depresiones cutáneas, cicatrices, sienes, soporte subdérmico de las cejas, bolsas adiposas malares y bucales, surcos lagrimales, nariz, labios, mejillas, región perioral, región infraorbital, asimetrías faciales, líneas de la mandíbula, y mentón. Sin embargo, la composición se puede administrar también para tratar una indicación terapéutica tal como incontinencia urinaria de esfuerzo, reflujo vesicouretral, insuficiencia de las cuerdas vocales, medialización de las cuerdas vocales.

- 35 Todas las explicaciones y comentarios proporcionados anteriormente con respecto al primer aspecto de la invención (p.ej., con respecto a los ingredientes o sustancias comprendidas en la composición de relleno dérmico inyectable, su método de fabricación, y las definiciones de ciertos términos técnicos) son igualmente aplicables al método según el sexto aspecto de la invención.

La presente invención se ilustrará adicionalmente a continuación mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos

- 45 Los ejemplos proporcionados a continuación demuestran que la composición de relleno dérmico según la presente invención tiene una fuerza de extrusión significativamente reducida, mientras sus propiedades mecánicas (es decir, módulo de elasticidad (G') y viscosidad) inesperadamente se mantienen o incluso mejoran.

Medida de la fuerza de extrusión

Se determinó la fuerza de extrusión de geles de HA (con o sin CMC o con fase de lubricación HA libre) con una jeringa BD de 1,0 ml y agujas Neoject 25G x 5/8". Para este fin, se usó un analizador de textura TA.XTPLUS. El ensayo se llevó a cabo mediante el uso de una precarga de 0,500 N, y una velocidad de ensayo de 5 cm/min.

- 50 Se determinó la fuerza de extrusión de geles HA/CaHAP (con o sin CMC o con fase de lubricación de HA libre) con una jeringa de plástico de 1,5 ml y agujas Terumo K pack II 27G TW 3/4. Para este fin, se usó un analizador de textura TA.XTPLUS. El ensayo se llevó a cabo mediante el uso de una precarga de 0,500 N, y una velocidad de ensayo de 5 cm/min.

Medida del módulo de elasticidad (G') y la viscosidad dinámica

Se midió el módulo de elasticidad (G') y la viscosidad mediante el uso de un reómetro Anton Paar MCR 302 equipado con un sistema placa-placa con un diámetro de 20 mm.

- 5 En el caso de los geles de HA (con o sin CMC o fase de lubricación de HA libre), se determinó G' y la viscosidad mediante el uso de los siguientes ajustes:

Temperatura	30 °C
Distancia de Separación	1,0 mm
Tamaño de las Placas	PP35
Tau (Esfuerzo)	5 Pa
Intervalo de Frecuencias	0,1 - 10 Hz
Frecuencia/Década	6

En el caso de los geles de HA/CaHAP (con o sin CMC o fase de lubricación de HA libre), se determinó G' y la viscosidad mediante el uso de los siguientes ajustes:

Temperatura	25 °C
Distancia de Separación	2 mm
Tamaño de las Placas	PP20
Tau (Esfuerzo)	30 Pa
Intervalo de Frecuencias	0,1 - 10 Hz
Frecuencia/Década	6

10 **Ejemplo 1**

Preparación de geles de HA sin fase de lubricación y con o sin partículas de hidroxapatita cálcica (CaHAP) (gel MHAG y gel MHA) (Geles Comparativos)

Preparación de disoluciones de reticulación

- 15 Se preparó una "torta" de HA disolviendo 43 g de hialuronato sódico (peso molecular medio de alrededor de 2,8 MDa) en 270,35 g de tampón fosfato. La torta de HA obtenida se puede almacenar en un refrigerador hasta que se necesite. Además, se preparó una disolución alcalina disolviendo 3,31 g de hidróxido sódico sólido en 10 ml de tampón. Además, se preparó una disolución de BDDE mezclando 12,5 g de una disolución de NaOH 2 M con 88,5 g de tampón fosfato, y después mezclando 8,21 ml de esta disolución y 3,395 ml de BDDE.

Reticulación

- 20 La torta de HA se fragmentó manualmente en trozos pequeños. La disolución alcalina se añadió completamente a un recipiente, seguido de mezcla durante 30 a 40 minutos a 12 rpm. Después, se añadió la disolución de BDDE al recipiente, y se continuó la mezcla durante 10 a 15 minutos a 25 rpm. El punto de ajuste de la temperatura se cambió a 33,33 °C, y la mezcla se dejó durante 4 horas a esta temperatura.

Neutralización y Purificación

- 25 Se preparó una disolución de neutralización añadiendo 920,99 g de tampón a 84,62 g de HCl 1 M. Después se añadió la disolución de neutralización completa al recipiente, y se agitó durante 2 horas a 5 °C. Después, el gel se purificó según métodos conocidos para los expertos en la técnica. El gel resultante (el "gel MHA") se usó después para preparar las formulaciones de gel MHAG (sin CaHAP) y MHA (con CaHAP) descritas a continuación.

Gel MHAG

- 30 Para preparar el gel MHAG, se preparó una disolución concentrada de lidocaína "LS1" añadiendo 2 g de lidocaína a 2 g de tampón fosfato, seguido de agitación suave mediante el uso de un agitador magnético hasta la disolución completa. Después, se mezclaron 467 g del gel MHA preparado en el Ejemplo 1 con 2116 µl de la disolución "LS1" durante 15 minutos mediante el uso de un mezclador adecuado. Después, se añadieron 33 g de glicerina y los compuestos se mezclaron moderadamente durante 1,5 horas. Después de una etapa de desgasificación adicional,

se rellenaron jeringas de 1 ml y se esterilizaron a 127 °C durante 4 min.

Gel MHAI

5 Además, se preparó un gel que corresponde al gel MHAG, pero que además contiene partículas de CaHAP en la misma cantidad que los geles preparados en los Ejemplos 4 a 6 según el procedimiento descrito anteriormente para el gel MHAG. Este gel de HA reticulado con CaHAP se denomina "MHAI" más adelante en la presente memoria.

Ejemplo 2

Preparación de un gel de HA con un 15% de CMC como fase de lubricación (Gel Inventivo)

10 Se preparó una disolución "LB1" añadiendo 62,75 g de glicerina a 2,150 g de lidocaína HCl y disolviendo esta mezcla en 135,142 g de tampón fosfato. Después se llevó a cabo una agitación suave mediante el uso de un agitador magnético hasta la disolución completa.

A continuación, se mezclan vigorosamente 2,764 g de NaCMC durante 1 hora en un recipiente con 105,24 g de LB1. Tras la desgasificación, se añadieron 392,025 g del gel MHAG preparado en el Ejemplo 1 y se mezclaron moderadamente durante 1,5 horas. Tras una etapa de desgasificación adicional, se rellenaron jeringas de 1 ml y se esterilizaron a 127 °C durante 4 min.

15 Ejemplo 3

Preparación de un gel de HA con un 15% (v/v) de HA libre como fase de lubricación (Gel Comparativo)

20 Se preparó una disolución "LB2" disolviendo 1,131 g de lidocaína HCl en 72,743 g de tampón fosfato. Después, se añadieron 1,170 g de hialuronato sódico (2,5-3,0 MDa). Tras la disolución completa, se añadieron 33,005 g de glicerina. La mezcla se agitó después a una velocidad moderada durante 1 hora y 30 minutos, y se mantuvo a 5 °C antes del uso.

Se preparó un gel de HA con un 15% (v/v) de lubricante de HA libre mezclando 106,721 g de LB2 con 387,357 g del gel MHAG preparado en el Ejemplo 1. Se mantuvo una mezcla moderada durante 2 horas. Tras la desgasificación, la mezcla se transfirió a jeringas de 1 ml, y se esterilizaron a 127 °C durante 4 min.

Ejemplo 4

25 *Preparación de un gel de HA/CaHAP con un 5% (v/v) de CMC como fase de lubricación (Gel Inventivo)*

Se preparó una disolución "LB3" de la misma manera que para LB1, excepto porque se usaron los siguientes materiales y cantidades: 4,633 g de NaCMC, 274,16 g de glicerina, y 121,3 g de tampón fosfato.

30 Se preparó un gel de HA/CaHAP con un 5% (v/v) de lubricante de CMC colocando 280,02 g de CaHAP (25 µm a 45 µm), 48,22 g de LB3, y 171,84 g del gel MHAG preparado en el Ejemplo 1 en un recipiente de mezcla. Después, se añadieron 2,120 ml de una disolución de lidocaína (2 g de lidocaína en 2 g de tampón fosfato). La mezcla se agitó a velocidad moderada durante 1,5 horas. Después de desgasificar a vacío, se rellenaron jeringas de 1 ml y se esterilizaron a 121 °C durante 20 minutos.

Ejemplo 5

Preparación de un gel de HA/CaHAP con un 10% (v/v) de CMC como fase de lubricación (Gel Inventivo)

35 Se preparó una disolución "LB4" de la misma manera que para LB1, excepto porque se usaron los siguientes materiales y cantidades: 7,039 g de NaCMC, 208,527 g de glicerina, y 184,46 g de tampón fosfato.

Se preparó un gel de HA/CaHAP con un 10% (v/v) de lubricación de CMC como se describió en el Ejemplo 4, excepto porque se usaron las siguientes cantidades: 280,02 g de CaHAP (25 µm a 45 µm), 63,29 g de LB4, y 156,79 g del gel MHAG preparado en el Ejemplo 1.

40 Ejemplo 6

Preparación de un gel de HA/CaHAP con un 15% (v/v) de CMC como fase de lubricación (Gel Inventivo)

Se preparó una disolución "LB5" de la misma manera que para LB1, excepto porque se usaron los siguientes materiales y cantidades: 8,529 g de NaCMC, 168,266 g de glicerina, y 223,29 g de tampón fosfato.

45 Se preparó un gel de HA/CaHAP con un 15% (v/v) de lubricante de CMC como se describió en el Ejemplo 4, excepto porque se usaron las siguientes cantidades: 280,02 g de CaHAP (25 µm a 45 µm), 78,46 g de LB5, y 141,562 g del gel MHAG preparado en el Ejemplo 1.

Ejemplo 7

Preparación de un gel de HA/CaHAP con un 10% (v/v) de HA libre como fase de lubricación (Gel Comparativo)

Se preparó una disolución "LB6" de la misma manera que para LB2, excepto porque se usaron los siguientes materiales y cantidades: 208,548 g de glicerina, 3,108 g de hialuronato sódico, y 188,581 g de tampón fosfato.

- 5 Se preparó un gel de HA/CaHAP con un 10% (v/v) de lubricante de HA libre mezclando 156,781 g del gel MHAG preparado en el Ejemplo 1 con 63,32 g de LB6 y 2120 μ L de disolución de lidocaína (2 g de lidocaína en 2 g de tampón fosfato). Después, se añadieron 280,02 g de CaHAP (25 μ m a 45 μ m) y se mezclaron moderadamente durante 1,5 horas. Tras la desgasificación, se rellenaron jeringas de 1 ml y se esterizaron a 121 °C durante 20 min.

Ejemplo 8

- 10 *Efecto del lubricante de CMC o del lubricante de HA libre sobre la fuerza de extrusión de un gel de HA reticulado*

En este ejemplo, se examinó el efecto de añadir CMC o HA libre como lubricante sobre la fuerza de extrusión de un gel de HA. Para este fin, se midió la fuerza de extrusión de los siguientes geles: gel MHAG (Ejemplo 1), gel MHAG con un 15% de CMC (Ejemplo 2) y gel MHAG con un 15% de HA libre (Ejemplo 3).

- 15 Se descubrió que el uso de CMC como lubricante disminuyó significativamente la fuerza de extrusión. La disminución fue similar a la observada con HA libre (véase la FIG. 1).

Ejemplo 9

Impacto del lubricante de CMC o del lubricante de HA libre sobre el módulo de elasticidad (G') de un gel de HA reticulado

- 20 En este ejemplo, se examinó el impacto del lubricante de CMC y del lubricante de HA libre sobre el módulo de elasticidad (G') de un gel de HA. Para este fin, se midió el G' (a 1 Hz, 25 °C) de los mismos geles que en el Ejemplo 8.

- 25 Se descubrió que la adición de CMC incrementó ligeramente G', mientras la adición de HA libre disminuyó G' (véase la FIG. 2). La conservación de G' es importante, ya que este parámetro influye en la capacidad de estiramiento de un relleno. Así, debido a que incluso se observó un incremento ligero con CMC, se espera que sea menos probable que el gel MHAG con un 15% (v/v) de CMC se desplace una vez bajo la piel, por lo que dará como resultado más "estiramiento".

Ejemplo 10

Influencia del lubricante de CMC o del lubricante de HA libre sobre la viscosidad de un gel de HA reticulado

- 30 En este ejemplo, se examinó la influencia del lubricante de CMC y del lubricante de HA libre sobre la viscosidad. Para este fin, se determinó la viscosidad (a 0,4 Hz, 25 °C) para los mismos geles que en el Ejemplo 8.

Se descubrió que la adición de CMC incrementa la viscosidad, mientras la adición de HA libre disminuyó ligeramente la viscosidad (véase la FIG. 3). La viscosidad también es un parámetro importante de una composición de relleno, ya que una viscosidad incrementada limitará la dispersión del gel en el tejido blando, y también contribuirá al efecto de creación de volumen.

- 35 Ejemplo 11

Efecto del lubricante de CMC o del lubricante de HA libre sobre la fuerza de extrusión de un gel de HA/CaHAP reticulado

- 40 Para estudiar si la adición de partículas de hidroxiapatita cálcica (CaHAP) cambia los resultados anteriores obtenidos para la adición de CMC o HA libre a un gel de HA reticulado, se prepararon los siguientes geles: MHA1 (comprende HA reticulado y partículas de CaHAP; véase el Ejemplo 1), MHA1 con un 10% de CMC (Ejemplo 5) y MHA1 con un 10% de HA libre (Ejemplo 7). Además, se preparó un gel de "MHA1 diluido" que corresponde al gel MHA1, excepto porque el gel MHA1 diluido tiene una concentración de HA de 15 mg/g. Después se midió la fuerza de extrusión de los geles anteriormente mencionados.

- 45 Se descubrió que la adición de un 10% de lubricante de CMC disminuyó significativamente la fuerza de extrusión. La disminución fue ligeramente mayor que la observada con HA libre. Además, se debería indicar que el uso de lubricante de CMC o HA libre proporciona una disminución de la fuerza de extrusión similar a la observada con el "gel MHA1 diluido" que tiene una matriz de HA menos concentrada (véase la FIG. 4).

- 50 Así, la incorporación de partículas de CaHAP en un gel de HA reticulado no cambia los resultados básicos observados para un gel de HA reticulado sin partículas de CaHAP; sin embargo, la disminución en la fuerza de extrusión fue aún más pronunciada en el caso de un gel de HA con partículas de CaHAP.

Ejemplo 12

Impacto del lubricante de CMC o del lubricante de HA libre sobre el módulo de elasticidad (G') de un gel de HA/CaHAP reticulado

5 En este ejemplo, se examinó el impacto del lubricante de CMC o del lubricante de HA libre sobre el módulo de elasticidad (G') de un gel de HA/CaHAP reticulado. Para este fin, se determinó G' (a 1 Hz, 25 °C) para los mismos geles que en el Ejemplo 11.

10 Se descubrió que la adición de un 10% de CMC da como resultado un incremento extraordinario de G'. En contraste, la adición de un 10% de HA libre va acompañada de una ligera disminución de G', y la dilución de la matriz de HA conduce a una caída intensa del módulo de elasticidad que cambiará drásticamente las propiedades del gel y los resultados clínicos (véase la FIG. 5).

Como se mencionó anteriormente, un gel con G' elevado dará como resultado un mejor efecto de creación de volumen. Por lo tanto, este ejemplo demuestra que la adición de un lubricante de CMC a un gel de HA/CaHAP reticulado da como resultado una capacidad de estiramiento superior.

Ejemplo 13

15 *Influencia del lubricante de CMC o del lubricante de HA libre sobre la viscosidad de un gel de HA/CaHAP reticulado*

En este ejemplo, se examinó la influencia del lubricante de CMC o del lubricante de HA libre sobre la viscosidad de un gel de HA/CaHAP reticulado. Para este fin, se determinó la viscosidad (a 0,4 Hz, 25 °C) para los mismos geles que en el Ejemplo 11.

20 Se descubrió que la adición de un 10% de CMC da como resultado un incremento intenso de la viscosidad, mientras la adición de HA solamente tiene un impacto mínimo. Como se esperaba, la dilución de la matriz de HA da como resultado una pérdida de viscosidad de como mínimo alrededor del 75%.

A este respecto, se debería indicar que la concentración del lubricante de CMC añadido se puede ajustar dependiendo de la fuerza de extrusión necesaria, como se muestra a continuación en el Ejemplo 14.

Ejemplo 14

25 *Influencia de concentraciones variables de lubricante de CMC sobre la fuerza de extrusión de un gel de HA/CaHAP reticulado*

30 En este ejemplo, se examinó la correlación entre concentraciones variables de lubricante de CMC añadido y la fuerza de extrusión. Para este fin, se midió la fuerza de extrusión para los siguientes geles: MHA1 (gel de HA/CaHAP reticulado; Ejemplo 1), MHA1 con un 5% de CMC (Ejemplo 4), MHA1 con un 10% de CMC (Ejemplo 5), y MHA1 con un 15% de CMC (Ejemplo 6).

Se descubrió que la adición de solamente un 5% de CMC conduce a una reducción significativa de la fuerza de extrusión, que se puede reducir adicionalmente mediante la adición de un 10% de CMC, y todavía más mediante la adición de un 15% de CMC (véase la FIG. 7).

35 En conjunto, los Ejemplos 1 a 14 anteriores demuestran que la dilución de un gel de HA conduce a una disminución de la fuerza de extrusión, pero también está asociada a una disminución intensa del módulo de elasticidad (G') y de la viscosidad, lo que deteriorará drásticamente el resultado clínico del relleno. Los experimentos demuestran además que, si se añade HA libre como lubricante, la fuerza de extrusión se reduce pero, desafortunadamente, también existe una disminución ligera a moderada de G' y la viscosidad.

40 En contraste, si se usó CMC como lubricante según la presente invención, se descubrió sorprendentemente que esto no solamente conduce a una fuerza de extrusión claramente reducida, sino también a un incremento de G' y de la viscosidad, especialmente en el caso de un gel de HA reticulado con partículas dispersadas (partículas de CaHAP). Tanto el incremento de G' como el incremento de la viscosidad da como resultado un efecto de estiramiento mejorado de la composición de relleno dérmico tras la inyección. Además, debido a la naturaleza reticulada del gel de HA, se obtendrá una persistencia de larga duración en el cuerpo humano.

45 Así, los experimentos presentados anteriormente proporcionan pruebas de que la composición de relleno dérmico según la presente invención proporciona un equilibrio óptimo de duración, capacidad de estiramiento y facilidad de inyección.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de relleno dérmico inyectable en forma de un gel, que comprende ácido hialurónico reticulado y carboximetil celulosa, en la que la carboximetil celulosa está presente a una concentración del 1,0% al 25,0% volumen/volumen.
- 5 2. La composición de relleno dérmico inyectable de la reivindicación 1, en la que el ácido hialurónico reticulado está presente a una concentración del 1,0% al 4,0% peso/volumen.
3. La composición de relleno dérmico inyectable de cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en la que el ácido hialurónico reticulado está reticulado con BDDE (1,4-butanodiol diglicidil éter) y preferiblemente tiene un grado de modificación, expresado como la proporción de la suma de reticuladores de BDDE reticulados de manera simple y
10 doble respecto de la suma de unidades de disacárido de ácido hialurónico, del 0,5% al 25%.
4. La composición de relleno dérmico inyectable de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la composición comprende además micropartículas biocompatibles reabsorbibles a una concentración del 1% al 50% volumen/volumen.
- 15 5. La composición de relleno dérmico inyectable de la reivindicación 4, en la que las micropartículas biocompatibles reabsorbibles consisten en materiales basados en fosfato cálcico, materiales basados en alúmina, un polisacárido natural biodegradable o un derivado del mismo, o un polímero sintético biodegradable de poliéster, poliortoéster o polianhídrido, en la que los materiales basados en fosfato cálcico incluyen hidroxiapatita cálcica, fluorapatita cálcica, cloroapatita cálcica, apatita de carbonato cálcico, fosfato tetracálcico, pirofosfato cálcico, fosfato tricálcico, y fosfato octacálcico.
- 20 6. La composición de relleno dérmico inyectable de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende además uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en anestésicos, polioles, vitaminas, aminoácidos, metales, antioxidantes, y sales minerales.
7. La composición de relleno dérmico inyectable de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la composición comprende un poliol, p.ej. glicerina, y/o un anestésico, p.ej. lidocaína.
- 25 8. La composición de relleno dérmico inyectable de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la composición tiene una o más de las siguientes propiedades:
 - (i) un módulo elástico G' a una frecuencia (f) de 0,4 Hz y 25 °C de 100 Pa a 4000 Pa;
 - (ii) una viscosidad a una frecuencia de 0,4 Hz y 25 °C de 20 Pa·s a 1000 Pa·s;
 - (iii) una tangente de delta (G''/G') a una frecuencia de 0,4 Hz y 25 °C de 0,25 a 0,6; y
 - 30 (iv) un pH de 6,5 y 7,5.
9. Un kit que comprende la composición de relleno dérmico inyectable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
10. Un método para preparar una composición de relleno dérmico inyectable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende las siguientes etapas:
 - 35 (a) proporcionar un gel de ácido hialurónico reticulado,
 - (b) proporcionar un gel de carboximetil celulosa,
 - (c) mezclar el gel de ácido hialurónico reticulado y el gel de carboximetil celulosa.
- 40 11. El uso de una composición de relleno dérmico inyectable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o un kit según la reivindicación 9 para aplicaciones cosméticas, que incluye el tratamiento cosmético de arrugas y líneas de la piel, líneas de la región glabellar, pliegues nasolabiales, pliegues del mentón, líneas de marioneta, líneas de la mandíbula, comisuras de la boca, arrugas periorales, patas de gallo, depresiones cutáneas, cicatrices, sienes, soporte subdérmico de las cejas, bolsas adiposas malares y bucales, surcos lagrimales, nariz, labios, mejillas, mentón, región perioral, región infraorbital, y asimetrías faciales.
- 45 12. Una composición de relleno dérmico inyectable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o un kit según la reivindicación 9 para el uso en terapia.
13. Una composición de relleno dérmico inyectable según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o un kit según la reivindicación 9 para el uso en el tratamiento de la incontinencia urinaria de esfuerzo, reflujo vesicouretral, insuficiencia de las cuerdas vocales, y medialización de las cuerdas vocales.

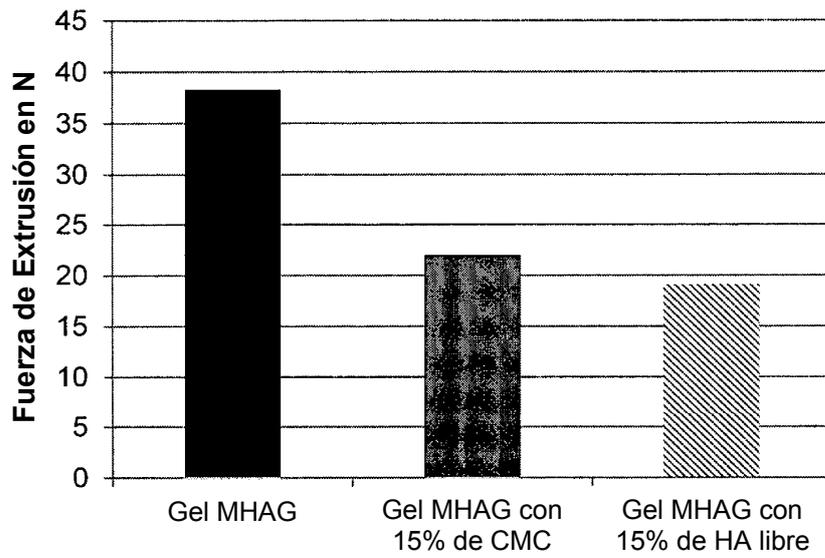


FIG. 1

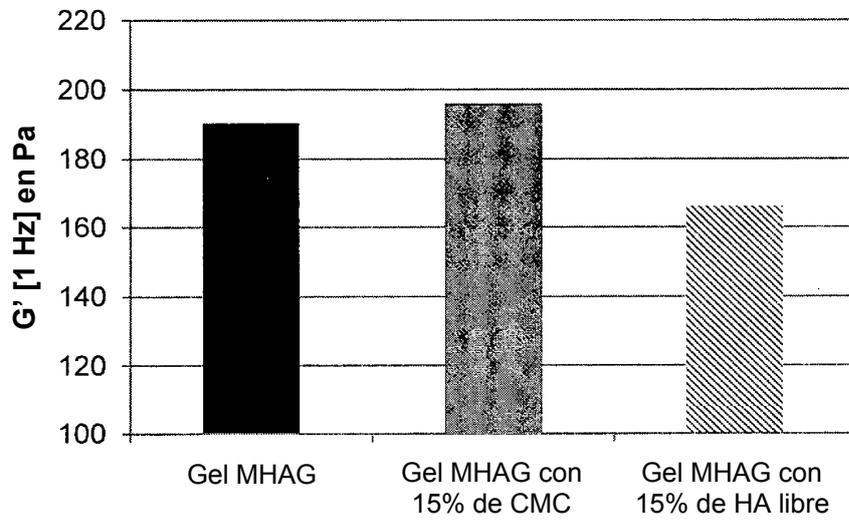


FIG. 2

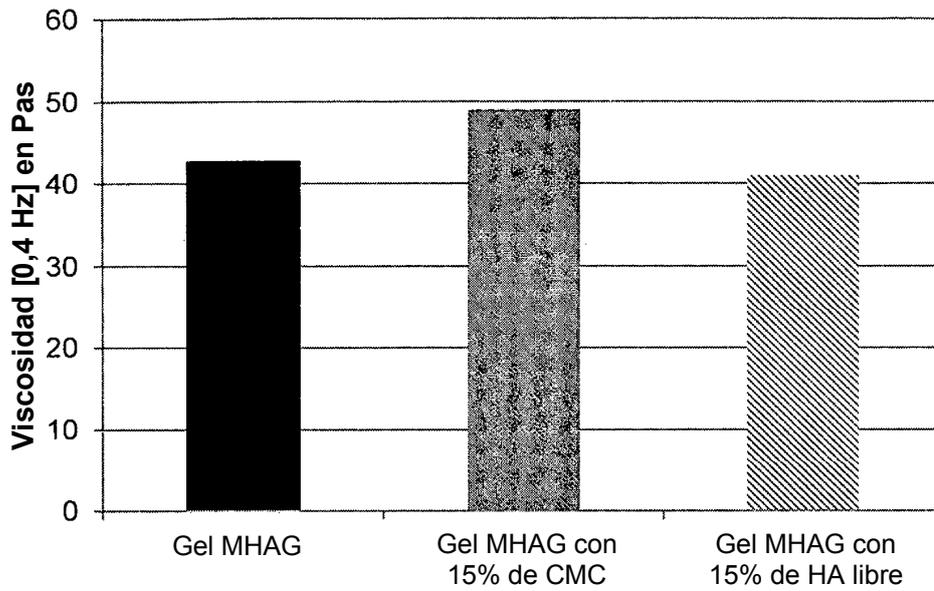


FIG. 3

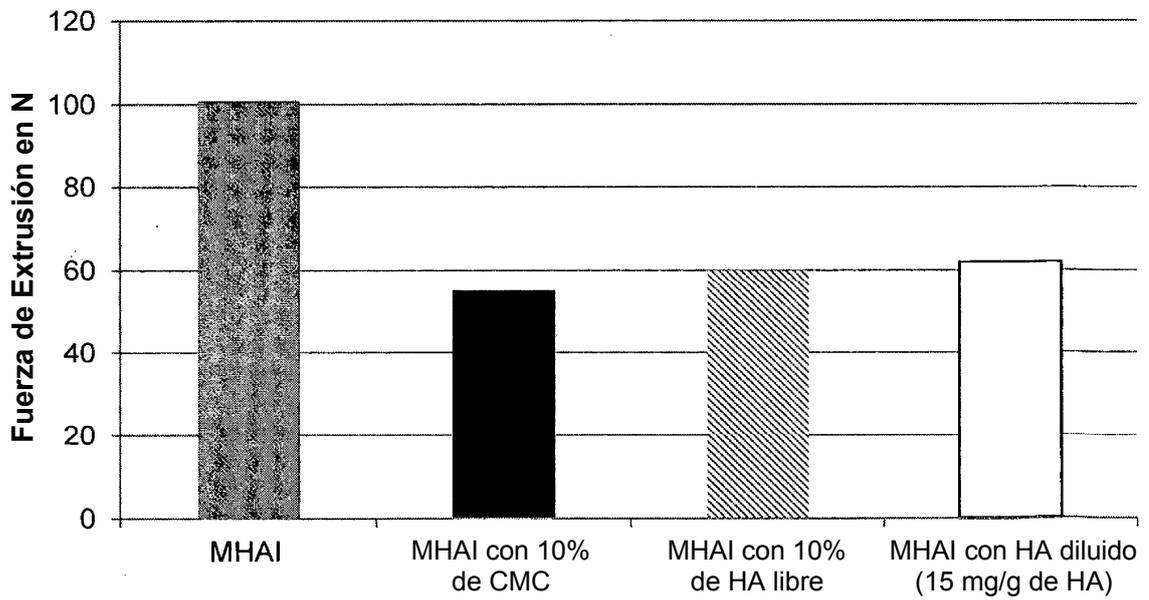


FIG. 4

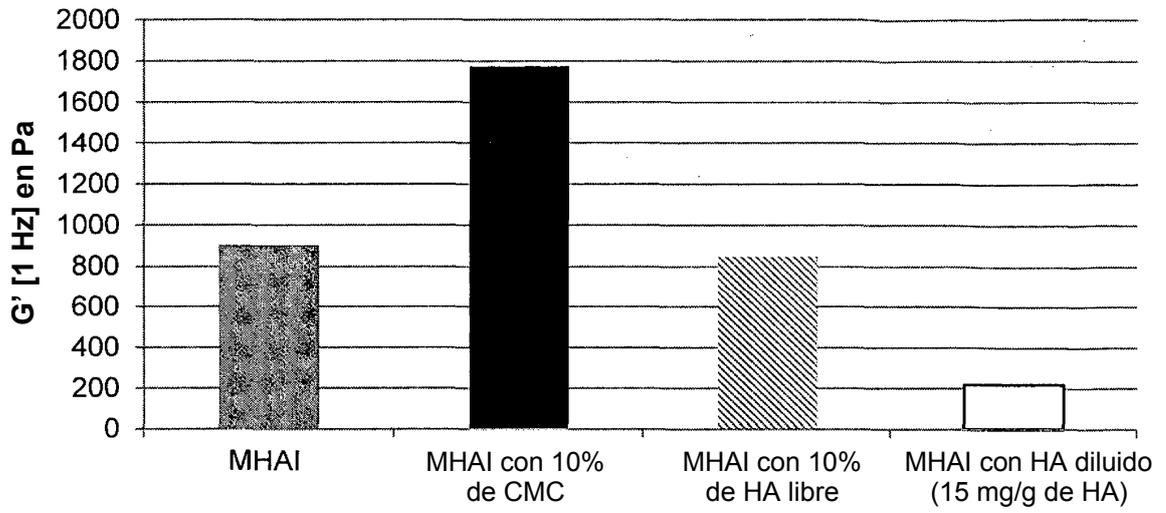


FIG. 5

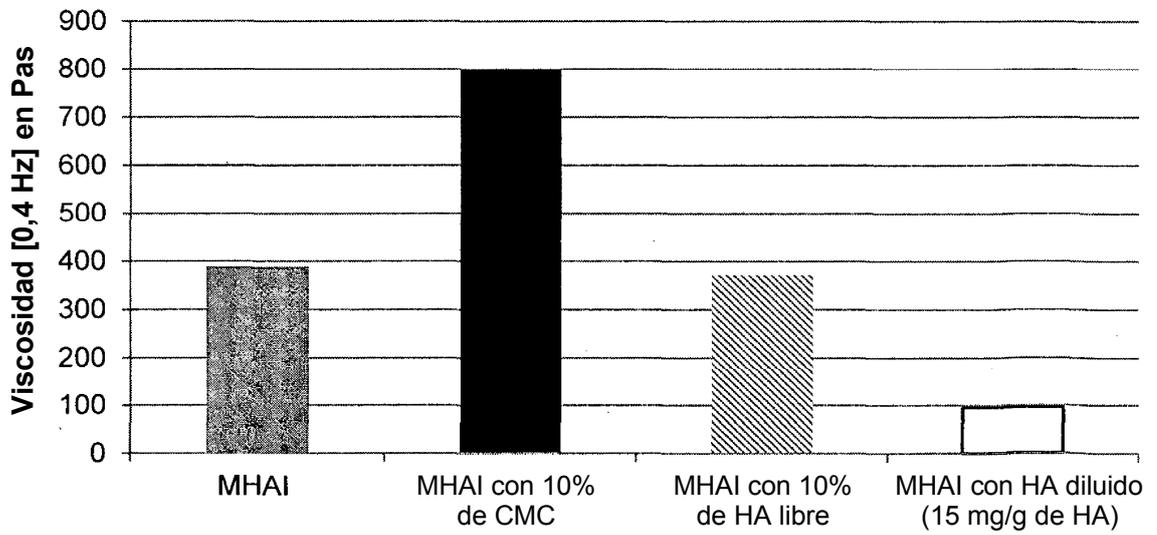


FIG. 6

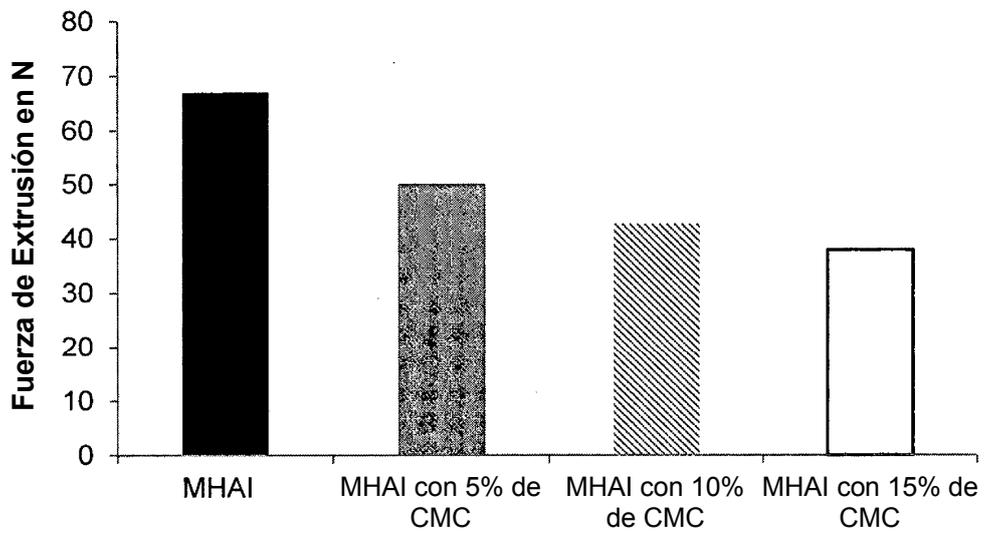


FIG. 7