

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 732 317**

51 Int. Cl.:

A61L 27/18 (2006.01)

A61L 27/52 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.02.2015 PCT/IB2015/051302**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.08.2015 WO15125117**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2015 E 15711859 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2019 EP 3107587**

54 Título: **Material de relleno dermocosmético y usos del mismo para fines estéticos**

30 Prioridad:
20.02.2014 IT MI20140248

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.11.2019

73 Titular/es:
**MASTELLI S.R.L. (100.0%)
Via Bussana Vecchia 32
18038 Sanremo (IM), IT**

72 Inventor/es:
**CATTARINI MASTELLI, LAURA;
CATTARINI MASTELLI, GIULIA y
CATTARINI MASTELLI, SILVIA**

74 Agente/Representante:
RUO , Alessandro

ES 2 732 317 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

Material de relleno dermocosmético y usos del mismo para fines estéticos

5 Campo de la invención

[0001] El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia o cirugía.

10 [0002] La presente invención se refiere a un material de relleno dérmico y a usos intradérmicos de los mismos para fines de medicina estética.

15 [0003] En particular, la presente invención se refiere a un material de relleno dérmico inyectable que encuentra una aplicación principal en el campo estético para reducir la profundidad de las arrugas, depresiones o similares con la liberación simultánea y gradual de nucleótidos o polinucleótidos libres que desempeñan una función trófica y antienvjecimiento en la dermis de la piel.

20 Técnica anterior

[0004] El envejecimiento cutáneo es un fenómeno crónico que se manifiesta con la aparición de arrugas, surcos, atrofia, relajación y pérdida de elasticidad de la piel, fenómenos que se hacen cada vez más evidentes con la edad.

25 [0005] El envejecimiento cutáneo está causado por una reducción del número y la capacidad funcional de los fibroblastos y por una reducción de su capacidad de síntesis metabólica, que también es la base de la distrofia dermo-epidérmica senil. En la piel senescente se produce un adelgazamiento de la epidermis y una pérdida de elasticidad que se expresa con la aparición de arrugas y surcos. En medicina estética, los materiales de relleno se usan para tratar estos signos de envejecimiento y para rellenar las arrugas cutáneas o aumentar el volumen.

30 [0006] Los materiales de relleno son generalmente productos poliméricos inyectables por vía subcutánea en las proximidades de arrugas, surcos cutáneos y, en general, en zonas del cuerpo en las que hay una piel caída. Una vez inyectados, realizan principalmente una acción mecánica de relleno de los tejidos, provocando una acción de estiramiento y relajación de la piel que reduce la profundidad de los surcos epidérmicos.

35 [0007] Los materiales de relleno disponibles en el mercado se pueden dividir en dos categorías principales, las basadas en sustancias biodegradables y las no biodegradables. Los materiales de relleno no biodegradables se denominan materiales de relleno permanentes porque no son absorbibles y generalmente están encapsulados en tejidos fibrosos y no están sujetos a hidrólisis o fagocitosis. Sin embargo, aunque ejercen una acción prolongada, los materiales de relleno permanentes tienen un mayor riesgo de desarrollar reacciones alérgicas y de rechazo por el cuerpo humano.

40 [0008] Los ejemplos habituales de materiales de relleno permanentes incluyen siliconas líquidas, partículas de silicona en suspensión, partículas de hidrogel acrílico reticuladas con ácido hialurónico, hidroxapatita de calcio, microesferas de polimetilmetacrilato dispersas en colágeno y formulaciones de gel de poliacrilamida.

45 [0009] Los materiales de relleno biodegradables se denominan temporales porque su efecto se desvanece con el tiempo y su aplicación se debe renovar para mantener el efecto de relleno sin cambios. Los materiales de relleno biodegradables generalmente se dividen en dos tipos, los de duración intermedia y los de larga duración. Los de duración intermedia son absorbibles después de unos pocos meses de implantación y están hechos de materiales sujetos a degradación por hidrólisis enzimática, tal como el ácido hialurónico, y, por lo tanto, pierden gradualmente la capacidad inicial para rellenar y relajar los tejidos. Por lo general, estos polímeros son materiales biodegradables presentes en la naturaleza, con alta biocompatibilidad y afinidad con el agua.

50 [0010] Sin embargo, estas matrices poliméricas, tal como el ácido hialurónico, se hidrolizan rápidamente una vez implantadas en un tejido, y los resultados obtenidos, aunque apreciables desde un punto de vista estético, no duran mucho.

55 [0011] Para solucionar estos problemas, la matriz de polímero biodegradable se ha modificado para obtener polímeros en forma reticulada con una duración de acción más larga.

60 [0012] Por ejemplo, en la actualidad, los ácidos hialurónicos que están disponibles en el mercado se tratan con agentes de reticulación para formar enlaces covalentes que hacen que la matriz polimérica resultante esté menos sujeta a la hidrólisis enzimática y la degradación enzimática, una vez inyectados en los tejidos.

65 [0013] Dado que estas matrices de polímeros reticulados son menos solubles y menos propensas a la degradación, se comportan como sustancias inertes que desempeñan una simple función de relleno de tejido, sin hacer una

contribución a la mejora de las condiciones de los tejidos que han conducido a la formación o aceleraron la formación de la arruga.

5 **[0014]** También se conocen algunos materiales de relleno de acción de larga duración que se fabrican en matrices de polímeros sintéticos. Aunque tienen la ventaja de ser poco biodegradables y, por lo tanto, tienen una acción de larga duración, estos materiales de relleno no están exentos de inconvenientes, ya que pueden causar reacciones alérgicas o enrojecimiento de la piel.

10 **[0015]** El documento US2010316683 desvela un hidrogel inyectable por vía subcutánea o intradérmica que comprende ácido hialurónico reticulado y ácido hialurónico libre o sales del mismo. Por lo tanto, en la actualidad, existe la necesidad de contar con nuevos materiales de relleno que tengan una duración de relleno prolongada y que, una vez implantados, tengan un bajo riesgo de fenómenos de rechazo o reacciones alérgicas.

15 **[0016]** Uno de los objetos de la invención es proporcionar un material de relleno que combine una acción de relleno a medio y largo plazo con una acción de tratamiento biológico dirigida a recuperar el eutrofismo de la piel o tejido en la zona del cuerpo en la que se aplica.

20 **[0017]** Un objeto adicional es proporcionar un material de relleno altamente biocompatible que, cuando se usa, esté casi libre de efectos secundarios.

25 **[0018]** Un objeto adicional de la invención es proporcionar un método de tratamiento estético o cosmético que elimine o reduzca sustancialmente las imperfecciones relacionadas con el envejecimiento de la piel, cuya realización está casi desprovista de los efectos secundarios habituales de las técnicas de cirugía cosmética y técnicas de corrección de imperfecciones.

Sumario de la invención

30 **[0019]** De acuerdo con algunos aspectos de la invención, los inventores han encontrado que inyectando polinucleótidos químicamente tratados por vía subcutánea o intradérmica, en los que la fracción de cadena polimérica de ácido nucleico está al menos parcialmente reticulada con un agente de reticulación biocompatible, en particular cadenas de ADN reticuladas con enlaces covalentes, las propiedades de relleno habituales de los materiales de relleno de duración media y larga se combinan con las características celulares eutróficas y regenerativas de los polinucleótidos o ADN. Los nucleótidos o ADN de ese tipo estimulan los fibroblastos, causando tanto un aumento numérico como un aumento de la actividad secretora. Este efecto es una ventaja importante de este material de relleno que añade la función eutrófica y antienvjecimiento de la dermis y la piel a la función mecánica del relleno de arrugas o surcos.

40 **[0020]** De acuerdo con algunos aspectos de la presente invención, los inventores han descubierto que al reticular la fracción de cadena polimérica de ácido nucleico con un agente de reticulación biocompatible por vía química, se obtiene una matriz de polinucleótidos reticulada con una capacidad de biodegradación reducida que encuentra aplicación en el campo cosmético como material de relleno o polímero también provisto de una actividad de restauración y regeneración celular.

45 **[0021]** De acuerdo con un primer aspecto del mismo, se proporciona un material de relleno, a base de polinucleótidos en los que la cadena polimérica de ácido nucleico está al menos parcialmente reticulada con un agente de reticulación biocompatible. De acuerdo con algunas realizaciones, los polinucleótidos reticulados o el ADN se obtienen mediante la reticulación de ADN o polinucleótidos que tienen una distribución de pesos moleculares de 0,5 a 3000 kDalton.

50 **[0022]** De acuerdo con algunas realizaciones, la cadena polimérica de nucleótidos se purifica al menos parcialmente en particular para eliminar su capacidad de información genética.

55 **[0023]** En algunas realizaciones, el polinucleótido es polidesoxirribonucleótido (PDRN) en el que la unidad de nucleótido contiene básicamente desoxirribosa como azúcar.

[0024] Por lo general, en el material de relleno dérmico, las unidades repetidas de ADN nucleotídico están reticuladas con un agente de reticulación biocompatible.

60 **[0025]** En algunas realizaciones, la fracción de cadena polimérica de ácido nucleico se encuentra en forma de gel. De acuerdo con algunas realizaciones, el material de relleno dérmico está en forma inyectable, en particular un gel inyectable.

65 **[0026]** De acuerdo con algunos de sus aspectos, la divulgación se refiere a una composición que contiene el material de relleno que se ha descrito anteriormente.

[0027] La composición de la divulgación se usa en estética de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones que

se definen en las reivindicaciones 1-9 o encuentra uso en el campo médico, por lo general en medicina estética, de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones de las reivindicaciones 10-15.

5 **[0028]** La composición, cuando se aplica a la zona de interés, combina la función mecánica de un relleno dérmico con una actividad de regeneración celular y un retraso en el proceso de envejecimiento celular debido a la liberación sostenida de polinucleótidos a los tejidos en la zona de implantación. Además, la reticulación del ADN polidesoxirribonucleótido aumenta el tiempo de persistencia de la composición del material de relleno en el sitio del implante de la inyección.

10 **[0029]** Por ejemplo, la composición del material de relleno puede tener un efecto de relleno que dura de 4 a 12 meses, de 5 a 10 meses, de 6 a 8 meses.

15 **[0030]** Por lo general, la composición de la divulgación es una composición en una forma adecuada para la aplicación por inyección o por implante intradérmico o implante subcutáneo.

20 **[0031]** De acuerdo con un primer aspecto de la misma, la presente invención proporciona un método no terapéutico para tratar imperfecciones de la piel o para rellenar surcos cutáneos que comprenden la inyección en la dermis o en el tejido subcutáneo de una cantidad eficaz de una composición inyectable a base de ADN o una fracción de cadena polimérica de ácido nucleico reticulada por vía química al menos parcialmente con un agente de reticulación biocompatible.

25 **[0032]** De acuerdo con ciertas realizaciones, el método no terapéutico de la invención es adecuado para estirar, reducir, mitigar arrugas, surcos faciales o para remodelar, rellenar los volúmenes de las zonas de la cara o el cuerpo de un individuo o para tratar o prevenir el envejecimiento facial.

30 **[0033]** De acuerdo con un segundo aspecto, se proporciona un método de tratamiento terapéutico que comprende la inyección en la dermis o en el tejido subcutáneo de una cantidad eficaz de una composición inyectable a base de polinucleótidos que comprenden una fracción de cadena polimérica de ácido nucleico al menos parcialmente reticulada con un agente de reticulación biocompatible.

35 **[0034]** De acuerdo con ciertos aspectos, el método de tratamiento terapéutico se puede aplicar en cirugía cosmética, cirugía plástica u ortopedia.

Descripción detallada de la invención

40 **[0035]** La presente invención en ciertos aspectos de la misma se origina al haber encontrado nuevas indicaciones de uso para polinucleótidos (PN) o ADN reticulado covalentemente por medio de un reactivo de reticulación biocompatible.

45 **[0036]** En particular, la invención se origina al haber encontrado que el injerto subcutáneo o intradérmico de una composición o gel a base de ADN estabilizado por reticulación química combina propiedades mecánicas y de relleno con características biológicas de regeneración celular que mejoran y prolongan el efecto estético después de relleno y estiramiento de los tejidos blandos.

50 **[0037]** En particular, el efecto estético obtenido es el resultado de la prolongación del tiempo de acción de la acción de relleno mecánico que resulta de la reticulación de los polinucleótidos (PN), ADN presente en la composición combinada con la acción biológica ejercida sobre las células dérmicas por PN o ADN que son liberados de forma progresiva por la composición.

55 **[0038]** De acuerdo con ciertos aspectos, la presente divulgación se refiere a los usos terapéuticos y no terapéuticos de una composición del tipo que se ha descrito.

60 **[0039]** De acuerdo con un primer aspecto de la misma, la presente invención por lo tanto se refiere al uso cosmético o estético de una composición inyectable a base de ADN o una fracción de cadena polimérica de ácido nucleico al menos parcialmente reticulada con un agente de reticulación biocompatible como material de relleno dérmico y regenerador celular o para aumentar el volumen de un tejido blando.

65 **[0040]** Por lo general, para este uso, se proporciona la inyección subcutánea o intradérmica de una cantidad cosméticamente eficaz de la composición del material de relleno.

[0041] En algunas realizaciones, los polinucleótidos o el ADN reticulado contiene o se obtiene mediante reticulación de polinucleótidos que tienen una distribución de peso molecular en el intervalo de 0,5 a 3000 kDalton, de 30 a 2000 kDalton, de 600 a 1600 kDalton, de 50 a 1600 kDalton. Por ejemplo, los polinucleótidos antes de la reticulación con el agente de curado tienen un peso molecular promedio en número de aproximadamente 350 kDalton.

[0042] Dentro del alcance de la invención, el término "polinucleótido" se refiere a un filamento o cadena polimérica a

base de nucleótidos, constituyendo en particular el material genético, por lo general ADN.

5 **[0043]** Los nucleótidos adecuados son los monómeros que constituyen los ácidos nucleicos ARN y ADN, en particular este último. Cada nucleótido contiene una base nitrogenada, purina o pirimidina, un azúcar con cinco átomos de carbono, por lo general pentosa, y al menos un grupo fosfato. El azúcar puede ser ribosa o desoxirribosa.

[0044] Las bases nitrogenadas de purina incluyen adenina, guanina, xantina, hipoxantina, las de pirimidina incluyen timina, citosina y uracilo.

10 **[0045]** Cada unidad de nucleótido puede contener de uno a cuatro restos de fosfato.

[0046] En algunas realizaciones, los polinucleótidos comprenden unidades monoméricas de ADN, por lo general a base de polidesoxirribonucleótidos (PDNR).

15 **[0047]** En algunas realizaciones, el ADN reticulado puede tener una longitud de 1000 a 10.000, de 1500 a 5000 pares de bases.

20 **[0048]** De acuerdo con ciertas realizaciones, los polinucleótidos del material de relleno se pueden obtener por extracción, por medio de tecnologías convencionales, a partir de fuentes naturales de origen natural, vegetal o animal, tales como algas, plancton, crustáceos o peces.

[0049] En algunas realizaciones, los polinucleótidos que son los materiales de relleno de la divulgación se obtienen por despolimerización de fracción de ADN de mayor longitud, opcionalmente purificados.

25 **[0050]** En algunas realizaciones, los polinucleótidos que son fracciones de filamentos o cadenas de polímeros de ADN obtenidos al triturar filamentos o cadenas de ADN para reducir el peso molecular y purificación parcial para eliminar la capacidad de llevar información genética.

30 **[0051]** De acuerdo con algunas realizaciones, los polinucleótidos a base de ADN se purifican eliminando de un 1 a un 5 %, de un 2 a un 2,5 % en peso del contenido total de las bases de purina originales.

35 **[0052]** De acuerdo con algunas realizaciones, los polinucleótidos se esterilizan, en particular calentando hasta una temperatura de 110 a 130 °C, por ejemplo a 121 °C durante un periodo de tiempo comprendido entre 15 y 20 minutos.

[0053] Los polinucleótidos del material de relleno dérmico están al menos parcialmente reticulados con un agente de reticulación biocompatible.

40 **[0054]** Los agentes de reticulación adecuados incluyen agentes de reticulación a base de dialdehídos y disulfuros, tales como divinilsulfonas, agentes de reticulación, PEG, diglicidil éteres, bis-carbodiimidias, bis-epóxidos y mezclas de los mismos.

[0055] En ciertas realizaciones, la composición contiene ADN químicamente reticulados por medio de agentes de reticulación biocompatibles.

45 **[0056]** Por lo general, la reacción de reticulación se produce entre los grupos amino en las bases de nucleótidos del ADN con un agente de reticulación biocompatible. En ciertas realizaciones, la reticulación del ADN conduce a la formación de hidrogeles químicos de ADN que tienen comportamientos reológicos habituales tal como lo describen, por ejemplo, Fuat Topuz *et al.*, "Rheological behavior of responsive DNA hydrogels", *Macromolecules* Washington DC USA, 41 (22), 8847-8854.

50 **[0057]** Los agentes de reticulación adecuados para reticular químicamente ADN o polinucleótidos incluyen agentes de reticulación bifuncionales y multifuncionales biocompatibles. Los agentes de reticulación adecuados incluyen polietilenglicol diglicidil éter, polietilenglicol epóxido, divinil sulfona (DVS), pentaeritritol tetraglicidil éter (PETGE), 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), 1,2-bis(2,3-epoxipropoxi)etileno (EDGE), 1,2,7,8-diepoxioctano (DEO), fenilen-bis-(etil)-carbodiimida, 1,6-hexano-etilen bis-(etilcarbodiimida), dihidrazida adípica (ADH), bis(sulfosuccinimidil)suberato (BS), hexametilendiamina (HMDA), 1-(2,3-epoxipropil)-2,3-epoxiciclohexano, BTDE o mezclas de los mismos.

60 **[0058]** Por lo general, los polinucleótidos adecuados tienen un grado de reticulación adecuado para mejorar uno de los defectos de la piel que se describen en el presente documento.

65 **[0059]** De acuerdo con algunas realizaciones, los polinucleótidos tienen un grado de reticulación comprendido entre un 0,1 y un 80 %, de un 1 a un 40 %, de un 5 a un 20 % en relación con el peso molecular de la cadena de polinucleótidos. Por lo general, el grado de reticulación se puede expresar como la proporción del porcentaje en peso del agente de reticulación en relación con los polinucleótidos.

[0060] De acuerdo con ciertos aspectos de la invención, el uso de un material de relleno de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones que se han descrito anteriormente se proporciona para la producción de una composición inyectable para aumentar el volumen de un tejido corporal humano.

5 [0061] De acuerdo con otro aspecto de la misma, la presente divulgación proporciona una composición que comprende

- un material de relleno dérmico a base de polinucleótidos o una fracción de cadena polimérica de ácido nucleico en el que la cadena polimérica de ácido nucleico está reticulada,
- 10 - un vehículo fisiológicamente aceptable.

[0062] Por lo general, la composición es una composición en una forma adecuada para la aplicación por inyección subcutánea o intradérmica o mediante implante en un tejido humano.

15 [0063] De acuerdo con algunas realizaciones, la composición contiene de un 0,01 a un 80 %, de un 0,5 a un 60 %, de un 1 a un 50 %, o de un 10 a un 40 % en peso del polinucleótido o ADN o fracción del mismo de acuerdo con cualquier realización que se ha descrito anteriormente.

20 [0064] Por lo general, el vehículo fisiológicamente aceptable de la composición es un excipiente, vehículo o diluyente adecuado para administración intradérmica o intracutánea. Un portador adecuado es un líquido para administración parenteral, en particular subcutánea o intradérmica.

25 [0065] Los vehículos adecuados en forma líquida incluyen agua, preferentemente ultrapura o para uso farmacéutico, solución salina isotónica (0,9 %), soluciones acuosas con tampón fosfato (PBS), soluciones de Ringer, o soluciones acuosas que contienen uno o más de carbonato, citrato, acetato, glicina y mezclas de los mismos.

[0066] De acuerdo con algunas realizaciones, la composición contiene uno o más agentes reguladores del pH y/o sistemas de tampón del tipo convencional en las técnicas de preparación de soluciones farmacéuticas inyectables.

30 [0067] Por ejemplo, para ajustar el pH a valores fisiológicamente compatibles se pueden usar tampones fosfato o tartrato.

[0068] Por lo general, la composición en forma inyectable es una solución salina estéril y exenta de pirógenos.

35 [0069] En algunas realizaciones, la composición tiene un pH en el intervalo de 4,5 a 8, de 6 a 7,6.

[0070] De acuerdo con algunas realizaciones, la composición está en forma de gel o hidrogel adecuado para inyección subcutánea o intradérmica.

40 [0071] En algunas realizaciones, la composición del material de relleno se encuentra en forma de partículas de gel.

[0072] De acuerdo con algunas realizaciones, la composición del material de relleno forma un gel o hidrogel monofásico.

45 [0073] En algunas realizaciones, las partículas de gel o hidrogel tienen un tamaño de partícula igual o inferior a 700 µm. Por ejemplo, de 50 a 700 µm, o de 100 a 400 µm, o de 200 a 300 µm, medido como el diámetro medio de la masa por técnica de difracción láser o por análisis microscópico.

[0074] De acuerdo con otras realizaciones, el gel monofásico está casi exento de partículas de gel.

50 [0075] De acuerdo con algunas realizaciones, la composición está en forma de suspensión, en particular a base de agua.

55 [0076] De acuerdo con algunas realizaciones, la composición comprende además uno o más excipientes fisiológicamente aceptables, tales como antioxidantes, diluyentes, disolventes, conservantes, agentes bactericidas, estabilizantes, emulsionantes, tensioactivos, tampones, humectantes, colorantes u otros excipientes usados comúnmente en técnicas de preparación cosméticas/farmacéuticas.

60 [0077] La composición puede contener además uno o más antioxidantes tales como vitamina C, bisulfito de sodio, glutatión, coenzima Q y mezclas de los mismos.

[0078] En algunas realizaciones, la composición comprende además sustancias cosméticas activas que se pueden administrar mediante inyección.

65 [0079] De acuerdo con ciertas realizaciones, el material de relleno o la composición de material de relleno se aplica mediante inyección subcutánea o intradérmica.

- 5 **[0080]** De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un tratamiento cosmético o estético que comprende la aplicación de una cantidad cosméticamente aceptable de una composición a base de polinucleótidos que comprende una fracción de cadena polimérica de ácido nucleico al menos parcialmente reticulada con un agente de reticulación biocompatible.
- 10 **[0081]** El método de tratamiento cosmético o estético de la invención se puede aplicar en el tratamiento de cualquier zona del cuerpo, tal como la cara, los labios, la zona alrededor de los ojos, mamas, glúteos, y en particular para mejorar la calidad estética de una característica anatómica.
- 15 **[0082]** De acuerdo con ciertas realizaciones, la composición de la invención es adecuada para su uso para fines estéticos, en particular para aumentar el volumen de zonas del cuerpo, por ejemplo los labios, alrededor de los ojos, o para el tratamiento, prevención, distensión de arrugas, pliegues cutáneos o estrías cutáneas, en particular los situados en la cara.
- 20 **[0083]** En algunas realizaciones, el método de tratamiento cosmético implica la inyección intradérmica o subcutánea de una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones que se han descrito anteriormente para rellenar arrugas, estrías faciales, depresiones cutáneas o cicatrices.
- 25 **[0084]** De acuerdo con un segundo aspecto, la invención se refiere a un método terapéutico de tratamiento que comprende la inyección de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición inyectable a base de polinucleótidos que comprenden una fracción de cadena polimérica de ácido nucleico al menos parcialmente reticulada con un agente de reticulación biocompatible.
- 30 **[0085]** En ciertas realizaciones, la composición de la invención puede contener un anestésico local, como lidocaína, tetracaína, mepivacaína, procaína, benzocaína y mezclas de los mismos, analgésicos tales como fármacos antiinflamatorios no esteroideos, agentes antimicrobianos tales como antibióticos para uso local y mezclas de los mismos.
- 35 **[0086]** En algunas realizaciones, los principios activos contenidos en la composición de la presente invención se pueden combinar o mezclar como principios activos en una mezcla íntima con un vehículo y/o un excipiente adecuado de acuerdo con técnicas farmacéuticas.
- 40 **[0087]** De acuerdo con algunos aspectos de la presente invención, el material de relleno o la composición de material de relleno de la invención se pueden aplicar en el campo médico, por ejemplo en cirugía, en particular cirugía plástica, odontología, urología, ortopedia u oftalmología.
- 45 **[0088]** De acuerdo con algunas realizaciones de este aspecto de la invención, el material de relleno o la composición de material de relleno de la invención es para el tratamiento o para el uso en el tratamiento de una afección médica que incluye malformaciones anatómicas, en particular con un impacto en el aspecto estético de la persona, o en la incontinencia urinaria, en las formas de adherencias tisulares en conectores particulares, en reflujo vesicouretral, en enfermedad por reflujo gastroesofágico o lipoatrofia.
- 50 **[0089]** En algunas realizaciones, el material de relleno o la composición de la invención se aplican en cirugía reconstructiva, tal como en cirugía maxilofacial o estética, por ejemplo en cirugía plástica, por ejemplo en blefaroplastia o rinoplastia.
- 55 **[0090]** De acuerdo con otros aspectos de la presente invención, el material de relleno o la composición del material de relleno se puede aplicar en el campo cosmético y/o estético.
- 60 **[0091]** En algunas realizaciones, el material de relleno o la composición de material de relleno se usa con mezclas de polinucleótidos no reticulados o con mezclas de polinucleótidos reticulados y ácido hialurónico reticulado y/o no reticulado.
- 65 **[0092]** En algunas realizaciones, el material de relleno o la composición de material de relleno se usa con mezclas de polinucleótidos reticulados o con ácido hialurónico reticulado o con los siguientes 4 componentes: polinucleótidos reticulados + polinucleótidos no reticulados + ácido hialurónico reticulado + ácido hialurónico no reticulado. Por lo general, las mezclas del material de relleno que se han descrito anteriormente también se pueden usar para infiltraciones cutáneas.
- [0093]** De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un método para el tratamiento de un área del cuerpo de un individuo con fines estéticos que comprende la aplicación o administración a un individuo de un material de relleno o de una composición que comprende un material de relleno de acuerdo con la divulgación.
- [0094]** De acuerdo con un aspecto adicional, la divulgación proporciona un proceso para la preparación del material de relleno o polinucleótido reticulado de acuerdo con la divulgación que incluye la preparación de una solución de polinucleótidos y la adición de un reactivo de reticulación biocompatible, por ejemplo, BDDE.

[0095] Por lo general, el medio disolvente usado es agua, preferentemente en forma pura y/o una mezcla de agua y alcohol, tal como alcohol etílico.

[0096] Como alternativa, para obtener el PN reticulado de la invención, es posible combinar un gel a base de polinucleótidos con un agente de reticulación biocompatible. De acuerdo con algunas realizaciones, el proceso para preparar la composición de la divulgación comprende disolver los polinucleótidos en agua y a continuación añadir un alcohol, por lo general alcohol etílico, para llevar a la disolución completa sin formación sustancial de grumos. En una última etapa del proceso, el reactivo de reticulación se añade a la solución que contiene los polinucleótidos (PN) con agitación, obteniendo una solución turbia que contiene PN, parcialmente reticulada. Por lo general, la solución resultante tiene un pH básico, por ejemplo en el intervalo de 10 a 13.

[0097] En una etapa posterior, el pH de la solución de PN reticulado se lleva a valores ligeramente ácidos, por ejemplo alrededor de pH 6,2-6,6, añadiendo un ácido débil tal como ácido acético. En estas condiciones, se forma un gel fluido al que se añade agua hasta que se obtiene un gel con una masa homogénea y consistente. En una última etapa, se añade un alcohol al gel con agitación y después de la decantación, se añade un precipitado que convenientemente en una etapa posterior se puede volver a suspender en alcohol, por lo general alcohol etílico, con agitación y precipitar y posteriormente secar.

[0098] El polvo obtenido a base de PN reticulado se puede rehidratar añadiendo un disolvente, por lo general agua y preferentemente un tampón, tal como fosfato/cloruro para obtener una composición en forma de gel.

[0099] El gel resultante también se puede esterilizar después del envasado, por ejemplo, calentando en un vial de jeringa.

Definiciones

[0100] En el presente documento, el término "vehículo" se refiere a un excipiente, vehículo, diluyente o adyuvante que puede estar presente en la composición de la invención. Cualquier vehículo y/o excipiente adecuado para la forma de preparación deseada para su administración se concibe en los usos que se describen en el presente documento.

[0101] La expresión "cosméticamente aceptable" como se usa en el presente documento se refiere a que la composición o componentes de la misma son adecuados para uso cosmético y cuando se aplican, no causan toxicidad, respuesta alérgica, enrojecimiento, incompatibilidad, inestabilidad y reacciones no deseadas similares.

[0102] La expresión "fisiológicamente aceptable" se refiere que la sustancia, cuando se aplica o administra al cuerpo humano, no causan toxicidad, respuesta alérgica, enrojecimiento, incompatibilidad, inestabilidad y reacciones no deseadas similares.

[0103] Dentro de este alcance, la expresión "cadena polimérica de ácido nucleico o ADN", "hebra de ácido nucleico o ADN" tienen básicamente el mismo significado.

[0104] En general, el término "reticulado" se refiere a enlaces intermoleculares que unen moléculas o cadenas poliméricas individuales o fracciones monoméricas de las mismas en una estructura más estable. Por lo general, un polinucleótido comprende al menos un enlace intermolecular reticulado que une al menos un polinucleótido individual (PN) o una fracción del mismo con otro polinucleótido o una fracción del mismo.

[0105] Dentro del alcance de la invención, la expresión "gel monofásico" se refiere a una red de gel viscoelástico reticulado que comprende menos de un 20 %, menos de un 10 %, menos de un 5 % en peso de partículas de gel.

[0106] El término biocompatible se refiere a un producto o productos que son fisiológicamente aceptables y que cuando se inyectan no causan reacciones adversas significativas o de otro modo si se producen, son de tipo local y están entre las reacciones e incomodidad normalmente encontradas después de una inyección o implante de productos de uso conocido.

[0107] Los siguientes ejemplos se proporcionan principalmente para ilustrar la presente invención y no pretenden limitar el alcance de protección tal como es evidente a partir de las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplo 1

[0108]

Material de relleno	composición
Polinucleótidos reticulados	25 mg
Cloruro de sodio	8 mg

Material de relleno	composición
Dihidrato monobásico de fosfato de sodio	0,30 mg
Dodecahidrato monobásico de fosfato de sodio	1,5 mg
Agua	lo necesario para 1 ml

CONTROLES	ESPECIFICACIONES	90 mg/g de BDDE
Aspecto	Gel compacto	Gel compacto
Color	Incoloro	Incoloro
pH	6,5 - 7,5	7,2
Volumen extraíble	1,0 - 1,1 ml	-----
Osmolaridad	270-330 mOs/kg	319
Bdde residual	< 10 ppm	adecuado
proteínas	< 0,5 %	adecuado
Etanol residual	< 500 ppm	adecuado
Identificación de UV de polinucleótidos	Absorción máxima a 260 ± 2 nm	adecuado
Dosificación de polinucleótidos	21-29 mg/ml	28 mg/ml
Esterilidad	Estéril	Estéril
Endotoxinas	< 87,5 EU/ml	adecuado

Ejemplo 2

5 [0109] Proceso para obtener polinucleótidos reticulados.

1A. En un vaso de precipitados que contiene 50 ml de NaOH al 1 %, poner 3 g de PN hasta disolución.

1B. Lentamente añadir 45 ml de alcohol C y agitar hasta que se obtiene una solución homogénea sin grumos en suspensión.

10 1C. Añadir 90 mcl de BDDE/g de PN, dejar agitar durante al menos 1 hora a temperatura ambiente.

2A. Ajustar el pH de la muestra a pH 6,4 con ácido acético glacial diluido a 1:5.

2B. Añadir 50 ml de agua y agitar hasta que se obtiene una masa homogénea.

2C. Lentamente añadir 250 ml de alcohol, dejar agitar durante al menos 30 minutos. Decantar.

2D. Desechar el sobrenadante y añadir 100 ml de alcohol etílico y dejar agitar durante al menos 2 horas.

15 3A. Decantar y desechar el sobrenadante, transferir el precipitado en un matraz calibrado con un embudo esmerilado y secar al vacío en baño María a 50 °C durante al menos 1 hora.

3B. Tomar aproximadamente 500 mg del polvo resultante y colocarlo en un crisol calibrado; poner la muestra en un horno a 105 °C hasta que el peso sea constante (aproximadamente 3-4 horas). Recuperar el crisol, dejar enfriar en un desecador y pesar de nuevo.

20 Proceder con el cálculo de la pérdida de peso de la muestra.

3C. Calcular la cantidad de tampón fosfato necesario para rehidratar el polvo hasta la concentración teórica de 25 mg/ml.

3D. Después de añadir el tampón al polvo, rehidratar en baño María a 50 °C durante al menos 8 horas.

25 [0110] Distribuir el gel en un vial de jeringa y autoclave durante 15 minutos a 121 °C.

Ejemplo 3

[0111] Ensayos experimentales de biocompatibilidad

30

citotoxicidad	no citotóxico	adecuado
Reactividad intracutánea	satisfactorio	adecuado
Hipersensibilidad retardada	no sensibilizante	adecuado
Mutagénesis	no mutagénico	adecuado
Implante subcutáneo	fenómenos no degenerativos	adecuado

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso cosmético o estético de una composición inyectable a base de una fracción de cadena polimérica de ácido nucleico como material de relleno dérmico y regenerador celular o para aumentar el volumen de un tejido, en el que la fracción de cadena polimérica de ácido nucleico está al menos parcialmente reticulada con un agente de reticulación biocompatible, de modo que los métodos para el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante cirugía o terapia se excluyen.
- 10 2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** dicha fracción de cadena polimérica de ácido nucleico comprende desoxirribonucleótidos unidos por un enlace fosfodiéster.
- 15 3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por que** dicho reactivo de reticulación biocompatible se selecciona entre agentes de reticulación a base de dialdehídos y disulfuros, agentes de reticulación a base de PEG y mezclas de los mismos.
- 20 4. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, **caracterizado por que** dicho reactivo de reticulación se selecciona entre polietilenglicol diglicil éter, polietilenglicol epóxido, divinil sulfona (DVS), pentaeritritol tetraglicidil éter (PETGE), 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), 1,2-bis(2,3-epoxipropoxi)etileno (EDGE), 1,2,7,8-diepoxioctano (DEO), fenilen-bis-(etil)-carbodiimida, 1,6-hexano-etilen bis-(etilcarbodiimida), dihidrazida adípica (ADH), bis(sulfosuccinimidil)suberato (BS), hexametilendiamina (HMDA), 1-(2,3-epoxipropil)-2,3-epoxiciclohexano, y/o mezclas de los mismos.
- 25 5. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que dicha composición además comprende un vehículo fisiológicamente aceptable.
- 30 6. Uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicho vehículo fisiológicamente aceptable se selecciona entre agua, solución salina con tampón fosfato, glicerol, carboximetilcelulosa y mezclas de los mismos.
- 35 7. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que dicha composición inyectable está en forma de un gel monofásico inyectable.
- 40 8. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que dicha composición además comprende una o más sustancias activas para regenerar la piel.
- 45 9. Uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para estirar arrugas, surcos o pliegues cutáneos.
- 50 10. Una composición inyectable a base de polinucleótidos que comprende una fracción de cadena polimérica de ácido nucleico, en la que la fracción de cadena polimérica de ácido nucleico está al menos parcialmente reticulada con un agente de reticulación biocompatible para su uso como material de relleno y regenerador celular en métodos para el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia o cirugía, en los que los tratamientos son tratamiento de malformaciones anatómicas con un impacto en el aspecto estético de una persona, tratamiento de incontinencia urinaria, reflujo vesicouretral, reflujo gastroesofágico o lipoatrofia, y en cirugía reconstructiva, cirugía maxilofacial especialmente en blefaroplastia o rinoplastia.
- 55 11. Una composición inyectable para su uso de acuerdo con la reivindicación 10, en la que dicho reactivo de reticulación biocompatible se selecciona entre agentes de reticulación a base de dialdehídos y disulfuros, agentes de reticulación a base de PEG y mezclas de los mismos.
- 60 12. Una composición inyectable para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que dicho reactivo de reticulación se selecciona entre polietilenglicol diglicil éter, polietilenglicol epóxido, divinil sulfona (DVS), pentaeritritol tetraglicidil éter (PETGE), 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), 1,2-bis(2,3-epoxipropoxi)etileno (EDGDE), 1,2,7,8-diepoxioctano (DEO), fenilen-bis-(etil)-carbodiimida; 1,6-hexano-etilen bis-(etilcarbodiimida), dihidrazida adípica (ADH), bis(sulfosuccinimidil)suberato (BS), hexametilendiamina (HMDA), 1-(2,3-epoxipropil)-2,3-epoxiciclohexano, y/o mezclas de los mismos.
13. Una composición inyectable para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10-12, que además incluye un vehículo fisiológicamente aceptable seleccionado entre agua, solución salina con tampón fosfato, glicerol, carboximetilcelulosa y mezclas de los mismos.
14. Una composición inyectable para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10-13 en forma de un gel monofásico.