(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 735 017**

(51) Int. CI.:

A61K 8/04 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
C08B 37/08 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01)
C08L 5/08 (2006.01)
A61K 8/73 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.10.2013 PCT/IB2013/059607**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **01.05.2014 WO14064632**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.10.2013 E 13820892 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2019 EP 2912074**

(54) Título: **Composición dérmica inyectable estéril**

(30) Prioridad:

24.10.2012 FR 1260146

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.12.2019

(73) Titular/es:

TEOXANE (100.0%)
Les Charmilles Rue de Lyon 105
1203 Geneva, CH

(72) Inventor/es:

BOURDON, FRANÇOIS y
MEUNIER, STÉPHANE

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición dérmica inyectable estéril

La presente invención se refiere al campo de las composiciones inyectables estériles basadas en ácido hialurónico o una sal del mismo, y está destinada al tratamiento de defectos e imperfecciones en la piel.

El ácido hialurónico, que está presente en la piel de manera natural, se conoce por sus propiedades viscoelásticas y también por su gran tendencia a absorber agua. Sus propiedades contribuyen en gran medida a la elasticidad de la piel.

Dadas sus propiedades y cualidades de biocompatibilidad, tolerancia y ausencia de toxicidad, de este modo, se han aprovechado las ventajas de este compuesto durante más de 10 años en muchas aplicaciones en el campo médico y cosmético y, en particular, en procedimientos estéticos.

Por lo tanto, el ácido hialurónico se utiliza para rellenar arrugas y reducir, o incluso eliminar, un debilitamiento local de la estructura de la dermis representada por una arruga o depresión en la piel, generalmente, por medio de una inyección directa en la dermis, en el área en consideración.

El ácido hialurónico sin modificar es perfectamente biocompatible e idéntico al ácido hialurónico endógeno.

Sin embargo, el ácido hialurónico se utiliza fundamentalmente en forma de gel basado en ácido hialurónico reticulado y, por lo tanto, en forma modificada dada la resistencia aumentada de esta forma particular a la degradación, al calor y, por lo tanto, a la esterilización.

Estos geles de ácido hialurónico reticulado se pueden obtener por medio de varios procesos de preparación. En términos generales, estos procesos requieren dos etapas principales, la primera consiste en hidratar el ácido hialurónico para convertirlo en un gel acuoso y la segunda tiene como objetivo la reticulación de dicho gel acuoso en presencia de un agente capaz de inducir la reticulación del mismo (también denominado "agente reticulante"). Normalmente, este agente se elige de entre epóxido, aldehído, poliaziridilo o divinilsulfona (DVS), o butanodiol diglicidil éter (BDDE), y su naturaleza es, por lo tanto, sintética.

A modo de ilustración de estos procesos, se puede hacer mención en particular a aquellos descritos en los documentos US 2006/0105022, la publicación internacional WO 2006/056204 y US 2007/0036745.

Los geles reticulados disponibles actualmente en el mercado y obtenidos con agentes reticulantes convencionales generalmente tienen grados de modificación superiores a un 4 % o, incluso, grados de modificación de hasta un 10 %.

Para los fines de la presente invención, la expresión "grado de modificación" pretende denominar la relación entre el número de moles del agente reticulante fijado al ácido hialurónico y el número de moles del ácido hialurónico que forma dicho gel reticulado. En particular, esta cantidad se puede medir por medio de análisis de RMN 1D ^{1}H del gel reticulado.

La expresión "número de moles del ácido hialurónico" pretende significar el número de moles de las unidades repetitivas de disacáridos del ácido hialurónico, la unidad de disacárido se compone de ácido D-glucurónico y de D-N-acetilglucosamina unidos entre sí por medio de enlaces beta-1,4 y beta-1,3 glucosídicos alternos.

Sin embargo, con vistas a acercarse lo más posible al ácido hialurónico endógeno, sería deseable tener geles de ácido hialurónico reticulado con un grado de modificación menor.

Es cierto que los geles reticulados con grados de modificación menores (es decir, entre un 1 % y un 2 %) ya se han propuesto. Desafortunadamente, han demostrado ser muy poco cohesivos y tener una baja resistencia al aplastamiento. Estas deficiencias se manifiestan en particular en reología oscilatoria a través de un intervalo restringido de viscoelasticidad (el intervalo de viscoelasticidad se representa por medio del intervalo de tensión en el que G' permanece constante, durante una medición con barrido de tensión. El alcance de este intervalo de viscoelasticidad se puede evaluar en particular al medir la tensión cruzada, es decir, la tensión a la que el valor de G' disminuye e iguala el valor de G").

Por lo tanto, se mejora este comportamiento para aplicaciones de rellenado de arrugas.

Más específicamente, sigue existiendo una necesidad de geles de ácido hialurónico reticulado con los menores grados de modificación posibles, que, al mismo tiempo, siguen siendo satisfactorios en términos de las propiedades mecánicas exhibidas.

Contra toda previsión, los autores de la invención se han dado cuenta de que un gel de este tipo se puede obtener cuando la etapa de reticulación se lleva a cabo en presencia de un tipo específico de compuesto.

De este modo, según un primer aspecto de la invención, la materia de la misma es un gel de ácido hialurónico reticulado que deriva de la reticulación de ácido hialurónico o de una sal del mismo en presencia de al menos una cantidad eficaz de al menos una poliamina endógena como agente reticulante, dicha reticulación se lleva a cabo en condiciones favorables para la unión covalente de dicho ácido hialurónico y de dicha(s) poliamina(s) endógena(s).

Es cierto que las poliaminas, que, sin embargo, son distintas de aquellas analizadas según la invención, ya se han propuesto para la formación de hidrogeles de ácido hialurónico reticulado.

De este modo, las publicaciones de Xiang Mei Yuan *et al*. (Journal of biomaterials Applications 0(0) 1-9; 27 de febrero de 2012) y de Junseok Yeom *et al*. (Bioconjugate Chem., 1991(2) 232-241), y también la solicitud internacional WO 2012/008722 proporcionan hidrogeles de ácido hialurónico (AH) reticulado en presencia de hexametilendiamina (HMDA). Sin embargo, la poliamina analizada, concretamente la hexametilendiamina (HMDA), es una diamina sintética y, por lo tanto, no una diamina endógena. Es más, las cantidades de agente reticulante (HMDA) utilizadas en este intervalo de la técnica anterior se encuentran entre un 25 % y un 72 % y dan lugar a grados muy altos de modificación de entre un 5 % y un 35 %.

La expresión "cantidad de agente reticulante" pretende denominar la relación entre el número de moles de poliamina(s) y el número de moles de ácido hialurónico, utilizados para sintetizar el gel.

Por último, como se desprende de los ejemplos posteriores, los geles de AH-HMDA demuestran ser significativamente menos eficaces en términos de propiedades mecánicas que aquellos obtenidos según la invención.

Con relación a las poliaminas endógenas analizadas según la invención, la solicitud internacional WO 2008/015249 propone, por su parte, utilizarlas junto con partículas de ácido hialurónico para uso tópico como agente activo antienvejecimiento y como un antioxidante. Por razones obvias, una mezcla de este tipo es muy diferente a los geles analizados según la invención.

La publicación de Di Meo *et al*. (Biomacromolecules, 2006, 7:1253-60) describe la formación de hidrogeles por medio de la reacción de Ugi o, de lo contrario, condensación de ácido hialurónico y espermidina. Por lo tanto, esto implica un mecanismo que es diferente del analizado en la presente invención. Es más, los hidrogeles así obtenidos y no dedicados a un uso según la invención dan lugar a un proceso que utiliza grandes cantidades de agente reticulante (entre un 5 % y un 25 %).

Por lo tanto, los autores de la invención se han dado cuenta de que una poliamina endógena constituye un agente reticulante de elección para obtener un gel de ácido hialurónico reticulado según las previsiones mencionadas anteriormente, concretamente, que tiene un grado de modificación reducido en comparación con aquellos observados con los agentes reticulantes analizados normalmente, y unas propiedades mecánicas y una resistencia a la esterilización que son particularmente satisfactorias.

En efecto, los geles reticulados según la invención tienen un grado de modificación significativamente reducido, concretamente, inferior o igual a un 1 %, mientras que, al mismo tiempo, siguen siendo satisfactorios en términos de propiedades mecánicas.

Un gel reticulado según la invención demuestra ser ventajoso también en que consiste en compuestos que están presentes de manera natural en la mayoría de los organismos vivos y de los seres humanos en particular.

Desde el punto de vista de esta naturaleza pseudonatural, satisface una demanda creciente de los consumidores a este respecto.

Por último, es probable que las propiedades intrínsecas a las poliamidas endógenas analizadas según la invención se conserven en el gel de ácido hialurónico reticulado obtenido según la invención. Resulta que, en tanto que estas propiedades tienen un efecto antioxidante o, incluso, un efecto antienvejecimiento, estas son particularmente deseables en el contexto de la presente invención.

Según otro aspecto de la presente invención, la materia de la misma es una composición dermatológica inyectable estéril que comprende, en un medio fisiológicamente aceptable, al menos un gel de ácido hialurónico reticulado según la invención.

Para los fines de la presente invención, el término "piel" abarca la piel de la cara, del cuello, del escote, de las manos, del cuero cabelludo, del abdomen y/o de las piernas, y también de los labios.

El término "estéril" pretende calificar a un entorno capaz de garantizar que los compuestos analizados en la composición según la invención y/o dicha composición que los contiene, tiene la inocuidad requerida para su administración en o través de la piel, en particular, en la administración vía intraepidérmica y/o intradérmica y/o subcutánea. En particular, es fundamental que la composición contenga dichos compuestos y que se administre

según una técnica de inyección, por ejemplo, según la técnica de mesoterapia, para evitar cualquier cuerpo contaminante capaz de iniciar una reacción colateral adversa en el organismo huésped.

Para los fines de la presente invención, el término "inyectable" pretende denominar una composición cuyas propiedades mecánicas son apropiadas para el uso analizado, concretamente, su administración en o a través de la piel para, en particular, rellenar arrugas.

Por consiguiente, una composición según la invención es inyectable por medio de una aguja hipodérmica fina (en particular, con un diámetro inferior a 18 G o, incluso, inferior a 27 G) y tiene de manera ventajosa un coeficiente de elasticidad (G') de entre 20 y 1000 Pa, preferiblemente, entre 40 Pa y 400 Pa, con un ángulo de fase (δ) inferior a 45°.

Este coeficiente de elasticidad (G') y el ángulo de fase (δ) se miden por medio del protocolo definido más adelante.

Según todavía otro aspecto de la presente invención, la materia de la misma es una composición dermatológica o cosmética que comprende al menos un gel de ácido hialurónico reticulado según la invención.

Esta realización, que no está limitada en términos de vía de administración, permite por consiguiente la administración de dicha composición por vía tópica.

Según otro aspecto de la presente invención, la materia de la misma es un kit que comprende lo siguiente:

- un envase que contiene al menos una dosis de un gel de ácido hialurónico reticulado según la invención o de una composición según la invención; y

- un dispositivo para inyectar en o a través de la piel o un dispositivo para microperforación de la piel, dedicado a la administración de dicha dosis.

Según todavía otro aspecto de la invención, la materia de la misma es el uso de un gel reticulado o de una composición según la invención, para rellenar defectos de volumen de la piel y, en particular, para rellenar arrugas.

Según todavía otro aspecto de la invención, la materia de la misma es el uso de un gel reticulado o de una composición según la invención para prevenir y/o tratar los signos cutáneos de envejecimiento cronológico y/o los signos cutáneos inducidos por factores externos tales como estrés, contaminación atmosférica, tabaco o exposición prolongada a radiación ultravioleta (UV).

Según todavía otro aspecto de la invención, la materia de la misma es el uso de un gel reticulado o de una composición según la invención para prevenir y/o tratar una modificación en la apariencia de la superficie de la piel.

Según todavía otro aspecto de la invención, la materia de la misma es el uso de un gel reticulado o de una composición según la invención para prevenir y/o tratar una modificación de las propiedades viscoelásticas o biomecánicas de la piel.

Para el fin de la presente invención, el término "prevención" pretende significar reducir el riesgo de aparición de un fenómeno.

Según otro aspecto de la invención, la materia de la misma es un proceso de tratamiento cosmético de la piel, que comprende al menos una etapa de administración, en o a través de la piel, de un gel reticulado o de una composición según la invención.

Según todavía otro aspecto de la presente invención, lo último se refiere a un proceso para preparar un gel reticulado según la invención, que comprende al menos las etapas que consisten en lo siguiente:

a) proporcionar un gel acuoso de ácido hialurónico o una sal del mismo, en estado no reticulado,

b) poner en contacto el gel obtenido en la etapa a) con una cantidad eficaz de al menos una poliamina endógena,

c) reticular dicha mezcla formada en la etapa b), dicha reticulación se lleva a cabo en condiciones favorables a la unión covalente de dicho ácido hialurónico y de dicha(s) poliamida(s) endógena(s), y

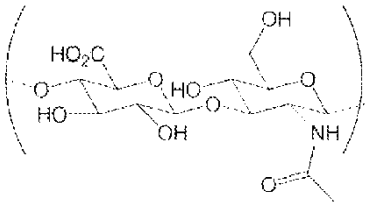
d) recuperar dicho hidrogel reticulado.

Según una realización particular, el proceso comprende también una etapa e) de parada de la reticulación, que consiste en exponer el gel reticulado a condiciones favorables para parar la reticulación del mismo, es posible llevar a cabo esta etapa antes, a la vez o después de la etapa de recuperación d).

Gel de ácido hialurónico reticulado

Como se indicó previamente, un gel de ácido hialurónico reticulado según la invención deriva de la reticulación de al menos ácido hialurónico o de una sal del mismo, como agente reticulante, al menos una poliamina endógena, dicha reticulación se lleva a cabo en condiciones favorables a la unión de dicho ácido hialurónico y de dicha(s) poliamina(s) endógena(s).

Los ácidos hialurónicos son polisacáridos lineales con unidades alternas de ácido D-glucurónico y N-acetil-D-glucosamina.



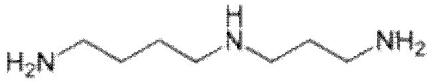
Están presentes de manera natural en diferentes tejidos y se degradan por medio de hialuronidasas, que están presentes por todo el cuerpo, o por medio de mecanismos de oxidación.

Para el fin de la presente invención, la expresión "poliamina endógena" pretende denominar una poliamina que está presente de manera natural en los organismos vivos y, más particularmente, en el cuerpo humano.

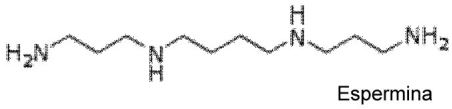
Por consiguiente, una poliamina según la invención difiere de la hexametilendiamina (HMDA) que es una poliamina de origen sintético.

A modo de representación de poliaminas endógenas, se puede hacer mención en particular, en animales eucariotas, a putrescina (o 1,4-diaminobutano), espermidina (o 1,8-diamino-5-azaoctano) y espermina (1,12-diamino-5,9-diazadodecano).

La espermina es una tetraamina y se sintetiza a partir de la espermidina.



Espermidina



Espermina

De manera ventajosa, la poliamina endógena utilizada para obtener un gel reticulado según la invención se puede elegir de entre espermidina, espermina y una mezcla de las mismas, y, mejor aún, espermina.

Esta selección es aún más ventajosa, ya que la espermina y la espermidina están implicadas en numerosos mecanismos celulares fundamentales, tales como la síntesis de ADN y la expresión genética. Utilizadas por vía tópica, ya se han descrito sus efectos beneficiosos en la mejora del estado de la piel y en la reducción de los signos del envejecimiento (véase, en particular, la solicitud internacional WO 2006/048671). Estos compuestos se consideran también antioxidantes y agentes activos antienvejecimiento de elección.

La reacción de unión analizada en la presente invención para lograr la reacción de reticulación entre el ácido hialurónico y la(s) poliamina(s) endógena(s) se lleva a cabo por medio de la reacción entre una función amina y un ácido carboxílico, provocando así la formación de una función amida.

En otras palabras, la reacción de reticulación analizada en la presente invención lleva a la formación de moléculas de ácido hialurónico reticuladas unidas covalentemente con la(s) poliamina(s) endógena(s). No hay interacciones electroestáticas.

Contra toda previsión, los geles reticulados resultantes, a la luz de los grados de modificación considerados muy reducidos, muestran propiedades mecánicas que son muy satisfactorias o, incluso, inalcanzables por medio de los procesos convencionales mencionados previamente.

Por lo tanto, un gel reticulado según la invención tiene de manera ventajosa un grado de modificación inferior o igual a un 1 %, preferiblemente, entre un 0,1 % y un 1 %, y, mejor aún, entre un 0,4% y un 0,8 %.

Como se indicó previamente, el "grado de modificación" se corresponde con la relación entre el número de moles de la poliamina endógena fijada al ácido hialurónico y el número de moles de ácido hialurónico que forma dicho gel reticulado. En particular, esta cantidad se puede medir por medio de análisis de RMN 1D ^{1}H del gel reticulado.

Cabe recordar que la expresión "número de moles de ácido hialurónico" pretende significar el número de moles de unidades repetitivas de disacáridos del ácido hialurónico, la unidad de disacárido se compone de ácido D-glucurónico y de D-N-acetilglucosamina unidos entre sí por medio de enlaces beta-1,4 y beta-1,3 glucosídicos alternos.

Según una realización particular, un gel reticulado según la invención es de tal manera que comprenda entre un 0,5 % a un 40 % en peso de ácido hialurónico no sometido a la reacción de reticulación, en relación a la cantidad total de ácido hialurónico.

Según otra realización particular, un gel reticulado según la invención puede tener una concentración de ácido hialurónico de entre 5 a 30 mg/g.

Según todavía otra realización particular, un gel reticulado según la invención puede tener un coeficiente de elasticidad (G') de entre 20 y 1000 Pa, preferiblemente, entre 40 Pa y 400 Pa.

Según una realización particular, un gel reticulado según la invención se puede encontrar en forma de un hidrogel viscoelástico principalmente elástico con un ángulo de fase (δ) inferior a 45°.

Según una realización preferida, un gel reticulado según la invención puede tener un coeficiente de elasticidad (G') de entre 20 y 1000 Pa, preferiblemente, entre 40 Pa y 400 Pa, en combinación con un ángulo de fase (δ) inferior a 45°.

En particular, un gel de ácido hialurónico reticulado según la invención puede ser inyectable por medio de una aguja hipodérmica con un diámetro entre 34 G y 18 G.

Según todavía otra realización particular, un gel reticulado según la invención es sumamente cohesivo. Esta característica se manifiesta, en particular, a través de una tensión cruzada de barrido de tensión alto, superior a 100 Pa.

El coeficiente de elasticidad (G', en Pa) y el ángulo de fase (δ, en °) se pueden medir según el siguiente protocolo:

Las mediciones se llevan a cabo a 25 °C a una frecuencia de 1 Hz, con un barrido de tensión utilizando un reómetro Thermo Haake RS3000 con una geometría de cono-plato de 1°/35 mm de diámetro. Se registran G' y δ a una tensión de deformación aplicada de 5 Pa, es decir, en el intervalo de viscoelasticidad donde G' y δ permanecen estables. Entonces, se registra también el valor de la tensión cruzada (cuando G' disminuye para igualar el coeficiente de viscocidad G'').

Por lo tanto, para un gel cohesivo según la invención, esta tensión cruzada es superior a 100 Pa.

Por último, según una realización particular, un gel reticulado según la invención puede tener una alta resistencia a la esterilización (la pérdida de G' provocada por la esterilización es inferior a un 50 %).

La esterilización se puede llevar a cabo en una autoclave (calor húmedo) a T° ≥ 121 °C, de modo que se obtenga un F0 > 15 (valor de esterilización).

Como se indicó previamente, la reacción de reticulación para obtener un gel reticulado según la invención se lleva a cabo en condiciones favorables a la unión covalente de dicho ácido hialurónico y de dicha(s) poliamina(s) endógena(s).

Para el fin de la presente invención, la expresión "condiciones favorables" pretende significar un elemento que inicia dicha unión.

La elección de este elemento de iniciación se encuentra claramente entre las habilidades de un experto en la técnica.

En términos generales, esta unión se lleva a cabo por medio de al menos un compuesto "activador", cuando sea apropiado, en combinación con al menos un "agente de unión auxiliar".

Por ejemplo, un activador de este tipo tiene la función de hacer que el carbono del grupo carboxilo del ácido hialurónico sea más eletrofílico y, por lo tanto, estimular así su reactividad con respecto a uno de los grupos amino de la poliamina endógena.

El activador puede ser de manera ventajosa un agente de condensación, por ejemplo, una sal de piridinio, por ejemplo, 2-cloro-1-metilpiridinio como se describe en el documento Magnani, A. *et al*. (Polymers for Advanced Technologies 1 1, 488-495 (2000)), un carbodiimida como se describe en el documento Bulpitt, P. y Aeschlimann (J. of Biomed. Materials Res. 47, 152-169 (1999)) o un derivado de triazina como se describe en el documento Bergman *et al*. (Biomacromolecules 8, 2190- 2195 (2007)).

Preferiblemente, un activador de este tipo se elige de entre carbodiimidas solubles en agua, tales como 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), 1-etil-3-(3-trimetilaminopropil)carbodiimida (ETC), 1-ciclohexil-3-(2-morfilinoetil)carbodiimida (CMC) y también sales de las mismas, y mezclas de las mismas, y está representado preferiblemente por EDC.

Preferiblemente, un agente de unión auxiliar, cuando está presente, se puede elegir de entre N-hidroxisuccinimida (NHS), N-hidroxibenzotriazol (HOBt), 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazol (HOOBt), 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HAt) y N-hidroxisulfosuccinimida (sulfo NHS) y mezclas de los mismos, y está representado preferiblemente por HOBt.

Incluso más preferiblemente, un activador de este tipo se puede elegir de EDC, cuando sea apropiado, en combinación con HOBt como agente de unión auxiliar.

La EDC hace posible activar el ácido carboxílico al formar un intermediario con el carboxilato. En particular, la adición de HOBt al medio de reacción hace posible evitar cualquier epimerización y promover la reacción.

Proceso para preparar un gel reticulado

Como se indicó anteriormente, la presente invención se refiere también a un proceso para preparar un gel reticulado según la invención, que comprende al menos las etapas que consisten en lo siguiente:

a) proporcionar un gel acuoso de ácido hialurónico o una sal del mismo, en estado no reticulado,

b) poner en contacto el gel obtenido en la etapa a) con una cantidad eficaz de al menos una poliamina endógena,

c) reticular dicha mezcla formada en la etapa b), dicha reticulación se lleva a cabo en condiciones favorables a la unión covalente de dicho ácido hialurónico y de dicha(s) poliamida(s) endógena(s), y

d) recuperar dicho hidrogel reticulado.

Según una realización particular, el proceso comprende también una etapa e) de parada de la reticulación, que consiste en exponer el gel reticulado a condiciones favorables para parar la reticulación del mismo, es posible llevar a cabo esta etapa antes, a la vez o después de la etapa de recuperación d).

Según una realización particular, la etapa de reticulación c) se puede llevar a cabo en presencia de al menos un activador, opcionalmente, en combinación con al menos un agente de unión auxiliar, es decir, compuestos que estimulan la reactividad de al menos uno de los dos compuestos que se van a unir, preferiblemente, elegido de entre aquellos mencionados previamente.

Por lo tanto, esta etapa de adición del activador y, opcionalmente, del agente de unión auxiliar se puede llevar a cabo de manera ventajosa a la vez que la etapa de reticulación c).

Según una realización particular, el ácido hialurónico utilizado para obtener un gel según la invención puede estar en forma de sal.

Preferiblemente, una sal de ácido hialurónico se puede elegir de entre sal de sodio, sal de potasio, sal de zinc, sal de plata y una mezcla de las mismas, preferiblemente, sal de sodio.

De manera ventajosa, el ácido hialurónico utilizado para obtener un gel según la invención puede tener un peso molecular medio que oscile entre 50 000 a 10 000 000 dalton, preferiblemente entre 500 000 a 4 000 000 dalton.

La adaptación de la cantidad de ácido hialurónico para llevar a cabo la reacción de reticulación se encuentra claramente entre las habilidades de un experto en la técnica.

De manera ventajosa, el ácido hialurónico o una sal del mismo se puede utilizar en un proceso para preparar un gel reticulado según la invención en un contenido de entre un 0,5 % y un 12 % en peso, preferiblemente, entre un 1 % y

un 4 % en peso, en relación al peso total de la mezcla obtenida al final de la etapa b), es decir, antes de llevar a cabo la etapa de reticulación c).

La adaptación de la cantidad de poliamida(s) endógena(s) para llevar a cabo la reacción de reticulación se encuentra claramente entre las habilidades de un experto en la técnica.

La cantidad de agente reticulante se corresponde con la relación entre el número de moles de poliamina(s) y el número de moles de ácido hialurónico, utilizados para sintetizar el gel.

De manera ventajosa, una o más poliamidas endógenas se pueden utilizar en un proceso para preparar un gel de ácido hialurónico reticulado según la invención en un contenido de entre un 0,1 % y un 3 %, preferiblemente, entre un 0,5 % y un 1,5 % por número de moles de poliamina(s) en relación al número de moles de ácido hialurónico que está presente en el medio de reacción, es decir, la mezcla de la etapa b).

De manera ventajosa, el (los) activador(es), cuando sea apropiado, en combinación con uno o más agentes de unión auxiliares, se puede(n) utilizar en un proceso para preparar un gel de ácido hialurónico reticulado según la invención en un contenido tal que el número de moles del (de los) activador(es) y, cuando sea apropiado, del (de los) agente(s) de unión auxiliar(es), en relación al número de moles de ácido hialurónico del medio de reacción (n activador/n AH) se encuentre entre 0,1 y 2, preferiblemente, entre 0,5 y 1,5.

El gel de ácido hialurónico reticulado se obtiene al tener en cuenta la presencia de al menos una poliamina endógena.

Por consiguiente, la reticulación se puede llevar a cabo utilizando solo este tipo de agente reticulante. Sin embargo, esta reticulación se puede llevar a cabo también al tener en cuenta la presencia simultánea de al menos un agente reticulante suplementario, en particular, convencional.

De manera ventajosa, este agente reticulante suplementario se puede tener en cuenta, entonces, en una cantidad significativamente reducida en comparación con aquella retenida convencionalmente cuando se utiliza como agente reticulante único.

Este agente reticulante suplementario se puede elegir de entre epóxido, aldehído, poliaziridilo, poliaminas distintas de las poliaminas endógenas, polifosfatos, divinilsulfona (DVS) y mezclas de los mismos, preferiblemente, de entre agentes reticulantes de epóxido, que son preferiblemente bifuncionales o multifuncionales.

Preferiblemente, el agente reticulante suplementario se puede elegir de entre epóxido, más particularmente, de entre 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE), diepoxioctano o 1,2-bis(2,3-epoxipropil)-2,3-etileno, 1,4-bis(2,3-epoxipropoxi)butano, 1,4-bisglicidiloxi-butano, 1,2-bis(2,3-epoxipropoxi)etileno, 1-(2,3-epoxipropil)-2,3-epoxiciclohexano y mezclas de los mismos, y, mejor aún, 1,4-butanodiol diglicidil éter (BDDE).

Asimismo, la presencia de una sal inorgánica de un haluro de metal alcalino se puede analizar también durante la reacción de reticulación.

En efecto, inesperadamente, los autores de la invención se han dado cuenta de que la presencia de una sal inorgánica de un haluro alcalino mientras se lleva a cabo la reacción de reticulación hace posible mejorar además las propiedades reológicas del gel reticulado para el mismo grado de reticulación.

Para el fin de la presente invención, la expresión "sal de un haluro alcalino" pretende denominar un compuesto formado por un catión alcalino y un anión que representa necesariamente un átomo de halógeno.

De manera ventajosa, el átomo de halógeno se puede elegir entre flúor, cloro, bromo y yodo, y está representado preferiblemente por cloro.

Preferiblemente, una sal inorgánica de un haluro alcalino según la invención se puede elegir de entre sales de sodio, sales de potasio y sales de cesio y, mejor aún, está representada por una sal de sodio.

Incluso más preferiblemente, una sal inorgánica de un haluro alcalino según la invención puede ser NaCl.

De hecho, el NaCl tiene la ventaja de ser fisiológicamente aceptable y es uno de los constituyentes de una de las materias primas que son parte de la composición de los geles de ácido hialurónico reticulado.

De manera ventajosa, la(s) sal(es) inorgánica(s) de un haluro alcalino se puede(n) utilizar en un proceso según la invención en un contenido de entre un 0,5 % y un 20 % en peso, preferiblemente, entre un 1 % y un 10 % en peso, en relación al peso total de la mezcla obtenida al final de la etapa b).

A la luz de lo mencionado anteriormente, un proceso para preparar un gel de ácido hialurónico reticulado según la invención requiere, primero, proporcionar un gel acuoso que comprenda al menos ácido hialurónico en una forma no reticulada, en combinación con al menos una poliamina endógena, como agente reticulante.

Para el fin de la presente invención, la expresión "no reticulado" pretende denominar un gel acuoso de ácido hialurónico que no se ha reticulado ni transformado, es decir, una disolución de ácido hialurónico cuyas cadenas de polímeros no están conectadas entre sí por medio de enlaces fuertes o covalentes.

Más específicamente, el gel acuoso analizado en la etapa a) se puede obtener de antemano al poner en contacto, en un recipiente adecuado:

i) un medio acuoso;

ii) al menos ácido hialurónico, o una sal del mismo, en una forma no reticulada; y

iii) cuando sea apropiado, al menos una poliamina endógena; y homogenizar la mezcla resultante, el orden de adición de dichos compuestos (i), (ii) y (iii) al recipiente no es importante.

En otras palabras, en el caso de que el gel acuoso de la etapa a) tenga en cuenta la presencia de al menos una poliamina endógena, las etapas a) y b) del proceso según la invención se llevarán a cabo entonces de manera concomitante.

Según una primera variante de la realización, este gel acuoso se puede formar al introducir el medio acuoso y el ácido hialurónico en el recipiente, con homogenización simultánea y/o consecutiva de la mezcla así formada y, entonces, cuando sea apropiado, añadir el agente reticulante con homogenización simultánea y/o consecutiva.

Según una segunda variante de la realización, este gel acuoso se puede obtener al introducir el medio acuoso, el ácido hialurónico y el agente reticulante en el recipiente, con homogenización simultánea y/o consecutiva de la mezcla así formada.

Esta segunda variante de la realización es ventajosa en que se lleva a cabo en una única etapa de homogenización.

De manera ventajosa, esta etapa de formación del gel acuoso se puede llevar a cabo a una temperatura inferior a 35 °C, preferiblemente, a una temperatura que oscile entre 15 a 25 °C y, mejor aún, a temperatura ambiente.

De manera ventajosa, el gel acuoso analizado en la etapa a) es homogéneo.

Esta cantidad está garantizada por una operación en la que el gel acuoso se homogeniza, dicha operación constituye posiblemente una etapa preliminar a la etapa a).

El fin de esta operación, llevada a cabo opcionalmente en presencia del agente reticulante, es, más particularmente, hidratar y homogenizar por completo el ácido hialurónico en el medio acuoso y, cuando sea apropiado, el agente reticulante, y contribuye así a la optimización de las cualidades del gel reticulado esperado.

En efecto, por razones obvias, la homogeneidad del gel reticulado está relacionada estrechamente con la naturaleza homogénea del gel antes de la reticulación.

La homogenización se considera satisfactoria cuando la disolución obtenida tiene una coloración homogénea, sin aglomerados, y una viscosidad uniforme. De manera ventajosa, se puede llevar a cabo en condiciones de operación moderadas para evitar la degradación de las cadenas de ácido hialurónico.

Esta etapa es aún más importante cuando el ácido hialurónico tiene un peso molecular alto. La hidratación de un compuesto de este tipo tiene, de hecho, una tendencia a generar la formación de una disolución de alta viscosidad en la que se observa comúnmente la aparición de aglomerados.

Como se desprende de lo mencionado anteriormente, la mezcla formada en la etapa b) o, incluso, cuando sea apropiado, el gel acuoso de la etapa a), cuando se tiene en cuenta la presencia del agente reticulante, se somete subsecuentemente a una reacción de reticulación, ilustrada por la etapa c) del proceso para preparar un gel de ácido hialurónico reticulado según la invención.

Como se indicó previamente, esta reticulación se lleva a cabo en condiciones favorables a la unión de dicho ácido hialurónico y de dicha(s) poliamina(s) endógena(s).

Las condiciones favorables que deben retenerse para inducir esta unión, y, por lo tanto, la reacción de reticulación, pueden depender del peso molecular del ácido hialurónico, del medio acuoso y de la naturaleza del agente reticulante, en este caso formado completa o parcialmente por una poliamina endógena.

En particular, estas condiciones favorables se pueden reflejar por la presencia de al menos un activador, cuando sea apropiado, en combinación con al menos un agente de unión auxiliar, como se indicó anteriormente.

Como se indicó anteriormente, la etapa de adición de un activador y, cuando sea apropiado, del agente de unión auxiliar se puede llevar a cabo preferiblemente a la vez que la etapa de reticulación c).

Sin embargo, según una realización particular, el activador y, cuando sea apropiado, el agente de unión auxiliar se añade(n) antes de la etapa de reticulación c) y, más particularmente, antes de la etapa de adición de al menos una poliamina endógena.

Según otra realización, esta etapa de adición del activador y, cuando sea apropiado, del agente de unión auxiliar se lleva a cabo a la vez que la etapa b), en cuyo caso la etapa b) se lleva a cabo entonces a la vez que la etapa de reticulación c).

Asimismo, el grado de reticulación depende también de la duración de la etapa de reticulación aplicada a la mezcla obtenida al final de la etapa b). Cuanto más largo sea el tiempo, mayor será el grado de reticulación, sin embargo, con un óptimo que no debe superarse, de lo contrario, existe el riesgo de degradar el ácido hialurónico.

Por lo tanto, cuando se lleva a cabo la reticulación del ácido hialurónico en presencia de EDC y de HOBt, la etapa de reticulación c) se puede llevar a cabo durante un periodo de tiempo que oscila entre 30 minutos a 72 horas, preferencialmente, entre 3 a 24 horas.

Como se describió previamente, la parada de la reticulación (etapa e) puede ocurrir antes, a la vez o después de la etapa d) de recuperación del gel.

Una etapa e) de este tipo puede requerir exponer el gel reticulado o el gel que se somete a reticulación, o, incluso, el recipiente que lo contiene, a condiciones favorables para parar dicha reticulación o, de lo contrario, a otras condiciones capaces de parar la formación de enlaces entre las distintas cadenas de polisacáridos.

Esta etapa se puede iniciar de manera natural si todos los reactivos se consumen durante la etapa c), o se puede promover por medio de una etapa de purificación que devuelve el gel a pH fisiológico y elimina los reactivos residuales no reactados.

Según una variante de la realización preferida, la etapa e) se lleva a cabo antes de la etapa d).

Según otra realización particularmente preferida, el proceso según la invención utiliza (i) hialuronato de sodio, (ii) espermina, como agente reticulante, y (iii) EDC, como activador, en combinación con HOBt, como agente de unión auxiliar.

Por razones obvias, en términos generales, el gel reticulado obtenido al final del proceso de la invención no es inyectable directamente porque la formulación acuosa correspondiente puede no ser compatible con las condiciones fisiológicas, o no tener un pH adecuado.

Por lo tanto, se pueden llevar a cabo una o más etapas adicionales, conocidas por los expertos en la técnica.

Más particularmente, una etapa de purificación del gel según la invención hace posible devolver este último a pH fisiológico y eliminar los reactivos residuales no reactados.

En particular, esta etapa de purificación se puede representar por medio de una etapa de diálisis. Es más, las etapas subsecuentes de homogenización, de incorporación de ácido hialurónico no reticulado y, opcionalmente, de fraccionamiento se pueden llevar a cabo también para mejorar además las calidades del implante, según los conocimientos y experiencia de un experto en la técnica. El gel se debe formular fisiológicamente mediante la presencia de sales en cantidades equivalentes a aquellas del medio inyectado.

Por último, se pueden llenar jeringuillas con el hidrogel resultante en condiciones atmosféricas controladas, haciendo posible que dichas jeringuillas se sometan a una etapa de esterilización, preferiblemente, esterilización por calor.

Composición

Como se indicó anteriormente, según otro aspecto de la presente invención, lo último también se refiere a una composición dermatológica inyectable estéril que comprende, en un medio fisiológicamente aceptable, al menos un gel de ácido hialurónico reticulado como se definió anteriormente.

En virtud de su naturaleza inyectable, una composición según la invención comprende por lo tanto necesariamente un medio fisiológicamente aceptable.

La expresión "medio fisiológicamente aceptable" pretende significar un medio que evita la toxicidad y que es compatible con la inyección y/o aplicación de la composición en o través de materiales de queratina.

La composición puede comprender un disolvente fisiológicamente aceptable o una mezcla de disolventes fisiológicamente aceptables.

La composición puede comprender un medio acuoso fisiológicamente aceptable.

A modo de medio acuoso que es adecuado para la invención, se puede hacer mención, por ejemplo, al agua.

A modo de agentes isotónicos que son adecuados para la preparación de una composición que es adecuada para la invención, se puede hacer mención a azúcares y cloruro de sodio.

Según todavía otro aspecto de la presente invención, como se indicó anteriormente, esto último se refiere a una composición dermatológica o cosmética que comprende al menos un gel de ácido hialurónico reticulado según la invención.

Esta realización, que no está limitada en términos de vía de administración, permite por consiguiente la administración de dicha composición por vía tópica.

Agentes activos adicionales

Una composición según la invención puede comprender también al menos un agente activo adicional que es compatible con el uso en el campo de las composiciones inyectables estériles.

Entre los agentes activos adicionales utilizables en la presente invención, se puede hacer mención a los antioxidantes, aminoácidos, vitaminas, minerales, ácidos nucleicos, coenzimas, derivados que contienen adrenalina y mezclas de los mismos.

A modo de antioxidantes, se puede hacer mención en particular a glutatión, ácido elágico, espermina, resveratrol, retinol, L-carnitina, polioles, polifenoles, flavonoles, teaflavinas, catequinas, cafeína, ubiquinol, ubiquinona y a una mezcla de los mismos.

A modo de aminoácidos, se puede hacer mención en particular a arginina, isoleucina, leucina, lisina, glicina, valina, treonina, prolina, metionina, histidina, fenilalanina, triptófano y una mezcla de los mismos.

A modo de vitaminas o derivados de las mismas, se puede hacer mención en particular a las vitaminas E, A, C y B, más particularmente, a las vitaminas B_6, B_8, B_4, B_5, B_9, B_7 y B_{12} y, mejor aún, a la piridoxina.

A modo de minerales, se puede hacer mención en particular a las sales de zinc, sales de magnesio, sales de calcio, sales de potasio, sales de manganeso, sales de sodio y a una mezcla de las mismas.

A modo de ácidos nucleicos, se puede hacer mención en particular a derivados de adenosina, de citidina, de guanosina, de timidina, de citodina y a una mezcla de los mismos.

A modo de coenzimas, se puede hacer mención en particular a la coenzima Q10, CoA, NAD, NADP y a una mezcla de las mismas.

A modo de derivados que contienen adrenalina, se puede hacer mención en particular a adrenalina y noradrenalina.

Asimismo, una composición según la invención puede comprender también cualquier excipiente utilizado normalmente en el campo técnico analizado, tal como, por ejemplo, monohidrato y/o dihidratro de dihidrógeno fosfato de sodio y cloruro de sodio, en contenidos fisiológicamente adecuados.

Las cantidades de agentes activos adicionales y/o excipientes dependen, por supuesto, de la naturaleza del compuesto analizado, del efecto deseado y del propósito de la composición según la invención.

Estos parámetros se encuentran entre las habilidades generales de un experto en la técnica.

De manera ventajosa, una composición según la invención puede comprender entre 2 ppm a 10 000 ppm, preferiblemente, entre 5 a 1000 ppm y, mejor aún, entre 50 a 500 ppm de agentes activos adicionales y/o excipientes en relación al peso total de dicha composición.

Asimismo, se sabe que la inyección de una composición dedicada a rellenar arrugas con frecuencia provoca una sensación dolorosa en el paciente.

Por lo tanto, según una realización particular, una composición según la invención puede comprender también al menos un agente anestésico.

Precisamente, un agente anestésico tiene la ventaja de reducir o, incluso, de eliminar la sensación dolorosa que siente el paciente en el momento y/o después de la administración de una composición según la invención.

Es más, los autores de la invención se han dado cuenta de que la presencia de un compuesto de este tipo no genera ningún riesgo de incompatibilidad con otros compuestos utilizados en una composición según la invención y, en particular, con el ácido hialurónico.

Un anestésico utilizable en la presente invención se puede elegir de entre ambucaína, amolanona, amilocaína, articaína, benoxinato, benzocaína, betoxicaína ,bifenamina, bupivacaína, butacaína, butambén, butanilicaína, butetamina, butoxicaína, carticaína, cloroprocaína, cocaetileno, cocaína, ciclometicaína, dibucaína, dimetisoquina, dimetocaína, diperodona, diciclonina, ecgonidina, ecgonina, cloruro de etilo, etidocaína, beta-eucaína, euprocina, fenalcomina, formocaína, hexilcaína, hidroxitetracaína, p-aminobenzoato de isobutilo, mesilato de leucinocaína, levoxadrol, lidocaína, mepivacaína, meprilcaína, metabutoxicaína, cloruro de metilo, mirtecaína, naepaína, octacaína, ortocaína, oxetazaína, paretoxicaína, fenacaína, fenol, piperocaína, piridocaína, polidocanol, pramoxina, prilocaína, procaína, propanocaína, proparacaína, propipocaína, propoxicaína, pseudococaína, pirrocaína, ropivacaína, alcohol salicílico, tetracaína, tolicaína, trimecaína, zolamina o una sal de los mismos.

Más particularmente, un anestésico utilizable en la presente invención se puede elegir de entre articaína, benzocaína, bupivacaína, cloroprocaína, lidocaína, mepivacaína, prilocaína, procaína, ropivacaína y tetracaína.

Preferiblemente, el anestésico puede ser lidocaína y, mejor aún, hidrocloruro de lidocaína.

Una composición según la invención puede comprender de manera ventajosa entre un 0,01 % a un 1 % en peso, preferiblemente, entre un 0,1 % a un 0,5 % en peso de anestésico(s), en relación al peso total de dicha composición.

Según una realización particular, un gel o una composición según la invención, además del ácido hialurónico en forma reticulada, puede comprender también ácido hialurónico en forma no reticulada.

Una combinación de este tipo de ácido hialurónico en forma libre y reticulada da lugar inmediatamente a hidratación y mantenimiento del volumen de la piel. Además, esto induce una estimulación de los fibroblastos dérmicos debido principalmente a la presencia de ácido hialurónico libre, y esta estimulación de fibroblastos se prolonga a lo largo del tiempo mientras el ácido hialurónico reticulado se degrada *in vivo*. Desde un punto de vista funcional, la presencia de ácido hialurónico no reticulado hace posible mejorar significativamente las fuerzas de extrusión del gel a través de una aguja, facilitando así la fuerza que va a aplicar el profesional sanitario para inyectar el producto.

Administración del gel de ácido hialurónico reticulado inyectable estéril o composición dermatológica

Un gel de ácido hialurónico reticulado o una composición según la invención se puede inyectar utilizando cualquier modo conocido por los expertos en la técnica.

En particular, un gel o una composición según la invención se puede administrar por medio de un dispositivo de inyección adecuado para inyección intraepidérmica y/o intradérmica y/o subcutánea.

El dispositivo de inyección se puede elegir de entre una jeringuilla, un conjunto de microjeringuillas, un dispositivo láser, hidráulico, una pistola de inyección, un dispositivo de inyección sin aguja o un rodillo de microagujas.

Preferiblemente, el dispositivo de inyección se puede elegir de entre una jeringuilla o un conjunto de microjeringuillas.

Preferiblemente, un medio de este tipo puede ser una aguja hipodérmica o una cánula.

Una aguja o cánula según la invención puede tener un diámetro que oscile entre 18 a 34 G, preferiblemente, entre 25 y 32 G, y una longitud que oscile entre 4 a 70 mm y, preferiblemente, entre 4 a 25 mm.

De manera ventajosa, la aguja o cánula es desechable.

De manera ventajosa, la aguja o cánula se combina con una jeringuilla o con cualquier otro dispositivo para entregar dicha composición inyectable a través de la aguja o de la cánula. Según una variante de la realización, se puede insertar un catéter entre la aguja/la cánula y la jeringuilla.

De una manera conocida, el profesional sanitario maneja la jeringuilla manualmente o, de lo contrario, por medio de un soporte de jeringuillas, tal como una pistola.

Kit

Según otro aspecto de la presente invención, lo último se refiere a un kit que comprende lo siguiente:

- un envase que contiene al menos una dosis de un gel de ácido hialurónico reticulado o de una composición según la invención; y

- un dispositivo para inyectar en o a través de la piel o un dispositivo para microperforación de la piel, dedicado a la administración de dicha dosis.

El envase es adecuado para el almacenamiento de al menos una dosis del gel o de la composición según la invención.

El envase se puede disponer de modo que permita, además, que dicho gel o dicha composición se muestree.

Por lo tanto, según una primera realización, dicho envase se ranura de modo que permita que dicho gel o dicha composición se muestree.

Por ejemplo, puede estar en forma de ampolla, de frasco o de cápsula, en particular, de cápsula blanda.

Preferiblemente, el envase puede ser monodosis y/o tener un extremo ranurado.

Según una segunda realización, dicho envase tiene una tapa que permite el sellado hermético durante el almacenamiento y que se puede perforar con una aguja o cánula en el momento de su uso.

Con respecto al dispositivo de inyección, este puede ser como se definió previamente y, preferiblemente, es desechable.

Preferiblemente, el dispositivo de inyección es adecuado para una inyección intraepidérmica y/o intradérmica y/o subcutánea.

Preferencialmente, dicho dispositivo es adecuado para la técnica de mesoterapia.

Uso

Según todavía otro aspecto de la presente invención, lo último se refiere al uso de un gel de ácido hialurónico reticulado o de una composición según la invención, para prevenir y/o tratar los signos cutáneos de envejecimiento cronológico y/o los signos cutáneos inducidos por factores externos tales como estrés, tabaco y/o exposición prolongada a radiación UV.

Un gel de ácido hialurónico reticulado o una composición según la invención es ventajoso también en que se puede utilizar para prevenir y/o tratar una modificación en la apariencia de la superficie de la piel, una modificación en las propiedades viscoelásticas o biomecánicas de la piel, una disminución en el metabolismo energético celular o deshidratación de la piel.

Un gel de ácido hialurónico reticulado o una composición según la invención es ventajosa de nuevo en que se puede utilizar para rellenar defectos en el volumen de la piel, en particular, arrugas, y/o restaurar el aspecto radiante de la piel.

Proceso de tratamiento

Según otro aspecto de la presente invención, lo último se refiere a un proceso de tratamiento cosmético de la piel que comprende al menos una etapa de administración, en o a través de la piel, de un gel de ácido hialurónico reticulado o de una composición según la invención.

Según una realización particular, la etapa de administración se puede repetir por toda la superficie que se va a tratar o en parte de la misma. La repetición de las inyecciones hace posible crear una estratificación tal que la composición según la invención se distribuye homogéneamente en la región de la piel que se va a tratar.

Según una realización particular, las regiones de la piel tratadas de manera ventajosa por medio de un proceso de la invención pueden ser la piel y los labios y, en particular, la piel de la cara, del cuello, del escote, de las manos, del cuero cabelludo, del abdomen y/o de las piernas.

Un gel o una composición según la invención se puede inyectar de manera ventajosa a nivel de las arrugas y líneas finas.

Existen varias técnicas de inyección.

A modo de técnicas utilizables, se puede hacer mención a la técnica del "bolo múltiple" que consiste en realizar inyecciones en la dermis superficial de una media de 0,05 ml de una composición según la invención, denominada bolo, dichos bolos están separados entre sí aproximadamente 1 cm. En particular, se recomienda esta técnica para la cara y el escote.

Se puede hacer mención también a la técnica del "retroceso" que consiste en realizar inyecciones lineales de seguimiento en la dermis superficial, introducir la aguja con un ángulo de 45° a lo largo de la depresión en la piel y, entonces, depositar la composición según la invención en la dermis superficial mientras se retira cuidadosamente la aguja.

Por último, se puede hacer mención a la técnica de "punción múltiple" que consiste en realizar una ráfaga de múltiples inyecciones de pequeñas cantidades de composición según la invención en la epidermis. Los puntos de inyección se encuentran muy cerca entre sí, por ejemplo, aproximadamente cada 3 mm, y se distribuyen uniformemente sobre la superficie que se va a tratar o formando una línea a lo largo de la arruga. En particular, esta técnica se recomienda para unificar el cutis.

El proceso de tratamiento según la invención demuestra ser ventajoso también para prevenir y/o tratar los signos cutáneos de envejecimiento o fotoenvejecimiento, en particular, elegidos de entre piel arrugada, piel que exhibe una modificación de sus propiedades viscoelásticas o bioquímicas, piel que exhibe una modificación en la cohesión de sus tejidos, piel adelgazada, piel que exhibe una modificación en la apariencia de la superficie, debilitamiento de la piel.

El proceso de tratamiento según la presente invención demuestra ser ventajoso también para prevenir y/o tratar una disminución en el metabolismo energético celular o deshidratación de la piel.

El proceso de tratamiento según la presente invención demuestra ser ventajoso también para rellenar defectos en el volumen de la piel, en particular, arrugas, y/o restaurar el aspecto radiante de la piel.

El proceso de tratamiento según la presente invención se puede llevar a cabo preferiblemente en una región epidérmica, dermoepidérmica y/o dérmica, o, incluso, subcutánea.

A lo largo de la presente solicitud, la expresión "que comprende un/a" es sinónimo de "que comprende al menos uno/a" y "entre... y..." y "que oscila entre... y..." y debe entenderse que incluye los límites.

Los siguientes ejemplos se dan por medio de una ilustración no limitativa de la presente invención.

Ejemplos

Ejemplo 1: Protocolo para preparar un gel de ácido hialurónico reticulado con espermina como agente reticulante

El ácido hialurónico se disuelve a una concentración de un 3 % (en peso) en agua. Después de obtener una disolución homogénea, una disolución que contiene espermina (la ≥ 96 % vendida por la empresa Sigma-Aldrich con el nombre Sigma), EDC como activador (hidrocloruro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida ≥ 98,0 % vendido por la empresa Sigma-Aldrich con el nombre Fluka) y HOBt como agente de unión auxiliar (hidrato de 1-hidroxibenzotriazol ≥ 97 % vendido por la empresa Sigma-Aldrich con el nombre Aldrich) se añadieron a la disolución de ácido hialurónico. El volumen de esta disolución se define de modo que se obtiene una mezcla total que contiene un 2,3 % de ácido hialurónico.

El pH de esta disolución se ajusta de modo que se obtiene un pH de la mezcla total de entre 5,5 y 6,5 antes de la reacción, utilizando una disolución diluida de HCl o de NaOH.

Las cantidades de reactivos se ajustan según el grado deseado de modificación.

Estas oscilan entre 5×10^{-3} y 2×10^{-2} mol/mol de unidades repetitivas de ácido hialurónico para la poliamina, y entre 0,5 y 1 mol/mol de unidades repetitivas de ácido hialurónico para el activador y el agente de unión auxiliar implicados en la reacción de unión. Las estequiometrías utilizadas se indican en los ejemplos dados.

Para la reticulación, el gel acuoso se expuso durante entre 7 a 24 h a 25 °C.

Después de la reticulación, el gel obtenido se purificó por medio de varios baños de diálisis durante un periodo de entre 2 a 3 días y, si fue necesario, se ajustó a pH fisiológico.

El gel acuoso obtenido después del lavado comprende una concentración de ácido hialurónico de cerca de 20 mg/g.

Para facilitar las fuerzas de extrusión para que el gel pase a través de una aguja, se incorpora entonces ácido hialurónico no reticulado y se homogeniza en el gel obtenido anteriormente.

La esterilización se lleva a cabo en una autoclave (calor húmedo) a T° ≥ 121 °C, para obtener un F0 > 15 (valor de esterilización).

Ejemplo 2: Preparación de geles de ácido hialurónico reticulado que son según la invención (con espermina) y comparativos (con HMDA)

Tres geles de ácido hialurónico reticulado se prepararon de acuerdo con el protocolo definido en el Ejemplo 1 anterior.

Para estos tres geles, n HOBt = n EDC = n AH.

Estos tres geles difieren entre sí en virtud de la naturaleza de la poliamina en consideración y/o la relación "poliamina/ácido hialurónico", como se ilustra en la Tabla 1 a continuación. La columna final [AH] indica la concentración de ácido hialurónico de los geles obtenidos.

Tabla 1:

Gel reticulado	Agente reticulante	Estequiometría: n poliamina/n AH	[AH], mg/g
A (comparativo)	HMDA*	0,100	21
B	Espermina	0,020	21
C	Espermina	0,010	21

* HMDA=hexametilendiamina

n HOBt = n EDC = n AH

1) Caracterización del grado de modificación de los geles A, B y C

Protocolo de preparación de la muestra

Los geles A, B y C se lavaron/precipitaron con isopropanol.

Los sólidos obtenidos se secaron y se solubilizaron entonces en D_2O, y se trataron en presencia de hialuronidasa (tipo VI-S, Sigma, 3kU) en 1 ml de D_2O para degradación del gel, para obtener una matriz líquida para análisis.

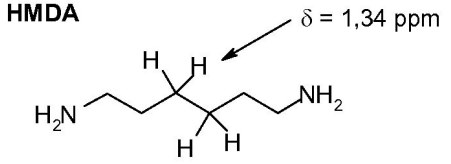
La mezcla homogénea obtenida se analiza entonces por medio de RMN ^1H.

Medición del grado de modificación

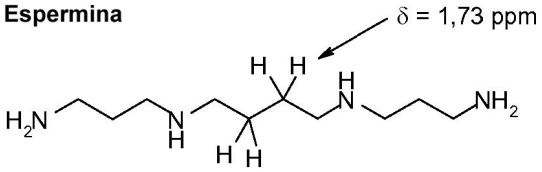
La caracterización de los respectivos grados de modificación en los geles A, B y C se llevaron a cabo por medio de espectroscopia de RMN.

Para las poliaminas, los picos del protón ^1H para HMDA a 1,34 ppm y para espermina a 1,73 ppm se retienen como referencias.

HMDA



Espermina



El grado de modificación de cada uno de los tres geles de ácido hialurónico reticulado se caracteriza entonces utilizando la integral de estos picos de referencia según la siguiente fórmula:

$$Grado\ de\ modificación = \frac{\left(\frac{Integral\ \delta_{Referencia}}{X}\right)}{\left(\frac{Integral\ \delta_{Acetamida}}{3}\right)}$$

X: número de protones del pico retenido para la medición, es decir, 4 para espermina y HMDA.

δ-Acetamida: cambio correspondiente al pico de acetamida de AH, por lo tanto, que comprende 3 protones.

El análisis de RMN se lleva a cabo en un espectómetro Bruker Avance 1 que funciona a 400 MHz (^{1}H).

Los distintos resultados y observaciones se resumen en la siguiente Tabla 2:

Tabla 2

GEL	δH-ref (ppm)	X	Grado de modificación (%)
A (HMDA control)	1,34	4	5,0
B	1,73	4	0,7
C	1,73	4	1,0

De la Tabla 2 anterior, se desprende que los grados de modificación de los geles reticulados B y C según la invención, en comparación con aquellos del gel de control A, se reducen significativamente.

Por lo tanto, el ácido hialurónico reticulado con espermina se modifica menos que el resultante de la reticulación con HMDA.

2) Caracterización de las propiedades mecánicas

a) Las propiedades viscoelásticas de los geles A, B y C se caracterizan por medio de la medición de su coeficiente de elasticidad G' (en Pa) y de su ángulo de fase δ (°), medidos a 1 Hz para una tensión de 5 Pa.

La Tabla 3 a continuación representa los valores medidos.

Tabla 3

Gel	Barrido de amplitud (cono/plato)		
	G' (Pa) medido a τ = 5 Pa	δ (°) medido a τ = 5 Pa	τ (Pa) medida en el cruce
A (HMDA control)	64	48,2	90
B	318	10,8	510
C	227	18,1	590

El gel de control A, aunque reticulado con una poliamina (HMDA), no es suficiente ya que, aunque el grado de modificación del ácido hialurónico es alto, sus propiedades mecánicas son débiles.

A pesar del reducido grado de modificación, los geles B y C exhiben, por otro lado, un comportamiento reológico que mejora significativamente en comparación con el gel comparativo A.

b) La resistencia a la esterilización de los geles A, B y C se determina por medio de la caracterización de la pérdida de coeficiente de elasticidad G' (en Pa) de estos geles después de la exposición a una esterilización llevada a cabo en una autoclave (calor húmedo) a T° ≥121 °C, de modo que se obtiene un F0 > 15 (valor de esterilización).

La Tabla 4 a continuación representa los valores medidos.

Tabla 4

Gel	Barrido de amplitud (cono/plato) medido a t = 5 Pa
	Pérdida G' (%)
A (HMDA control)	60 %
B	23 %
C	24 %

El gel de control A es una vez más no satisfactorio ya que exhibe muy poca resistencia a la esterilización en comparación con los geles B y C.

REIVINDICACIONES

1. Gel de ácido hialurónico reticulado que deriva de la reticulación de ácido hialurónico o de una sal del mismo en presencia de al menos una cantidad eficaz de al menos una poliamina endógena como agente reticulante, dicha reticulación se lleva a cabo en condiciones favorables a la unión covalente de dicho ácido hialurónico y dicha(s) poliamina(s) endógena(s), dicho gel tiene un grado de modificación inferior o igual a un 1 %, el grado de modificación es la relación entre el número de moles de la poliamina endógena unida al ácido hialurónico y el número de moles del ácido hialurónico que forma dicho gel reticulado.

2. Gel según la reivindicación 1, en donde dicha poliamina endógena se elige de entre espermidina, espermina y una mezcla de las mismas y, mejor aún, espermina.

3. Gel según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la unión se lleva a cabo en presencia de al menos un activador, en donde, cuando sea apropiado, en combinación con al menos un agente de unión auxiliar, dicho activador se elige preferiblemente de entre carbodiimidas solubles en agua, tales como 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), 1-etil-3-(3-trimetilaminopropil)carbodiimida (ETC), 1-ciclohexil-3-(2-morfilinoetil)carbodiimida (CMC) y también sales de las mismas y mezclas de las mismas y, en particular, se representa por EDC, y dicho agente de unión auxiliar, cuando está presente, se elige preferiblemente de entre N-hidroxisuccinimida (NHS), N-hidroxibenzotriazol (HOBt), 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazol (HOOBt), 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HAt) y N-hidroxisulfosuccinimida (sulfo NHS) y mezclas de los mismos y, en particular, se representa por HOBt.

4. Gel según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho gel tiene un grado de modificación entre un 0,1 % y un 1 % y, mejor aún, entre un 0,4 % y un 0,8 %.

5. Gel según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho gel tiene un coeficiente de elasticidad (G') de entre 20 y 1000 Pa, preferiblemente, entre 40 Pa y 400 Pa, en combinación con un ángulo de fase (δ) inferior a 45°.

6. Gel según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho gel tiene un barrido de tensión cruzada superior a 100 Pa.

7. Proceso para preparar un gel de ácido hialurónico reticulado como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende al menos las etapas que consisten en lo siguiente:

a) proporcionar un gel acuoso de ácido hialurónico o una sal del mismo, en estado no reticulado,

b) poner en contacto el gel obtenido en la etapa a) con una cantidad eficaz de al menos una poliamina endógena y, opcionalmente, en presencia de un agente de reticulación suplementario,

c) reticular dicha mezcla formada en la etapa b), dicha reticulación se lleva a cabo en condiciones favorables a la unión covalente de dicho ácido hialurónico y de dicha(s) poliamida(s) endógena(s),

d) recuperar dicho hidrogel reticulado y, opcionalmente,

e) parar la reticulación al exponer el gel reticulado a condiciones favorables para parar la reticulación del mismo, esta etapa opcional e) se lleva a cabo antes, a la vez o después de la etapa de recuperación d).

8. Proceso según la reivindicación 7, en donde la(s) poliamina(s) endógena(s) se elige(n) de entre espermidina, espermina y una mezcla de las mismas y, mejor aún, espermina.

9. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 7 y 8, en donde la(s) poliamina(s) endógena(s) se utiliza(n) en un contenido de entre un 0,1 % y un 3 %, preferiblemente, entre un 0,5 % y un 1,5 %, por número de moles de poliamina(s) en relación al número de moles del ácido hialurónico que está presente en la mezcla de la etapa b).

10. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en donde el ácido hialurónico o una sal del mismo utilizado en un contenido de entre un 0,5 % y un 12 % en peso, preferiblemente, entre un 1 % y un 4 % en peso, en relación al peso total de la mezcla obtenida al final de la etapa b).

11. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en donde se utiliza (i) hialuronato de sodio, (ii) espermina, como agente reticulante, y (iii) EDC en combinación con HOBt, como, respectivamente, activador y agente de unión auxiliar.

12. Composición dermatológica inyectable estéril que comprende, en un medio fisiológicamente aceptable, al menos un gel de ácido hialurónico reticulado como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

13. Composición cosmética o dermatológica que comprende al menos un gel de ácido hialurónico reticulado como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

14. Kit que comprende lo siguiente:

- un envase que contiene al menos una dosis de un gel de ácido hialurónico reticulado como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o de una composición como se define en la reivindicación 12; y

- un dispositivo para inyectar en o a través de la piel o un dispositivo para microperforación de la piel, dedicado a la administración de dicha dosis.

15. Uso de un gel de ácido hialurónico reticulado como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o de una composición como se define en la reivindicación 12, para rellenar defectos en el volumen de la piel y, en particular, para rellenar arrugas.

16. Proceso de tratamiento cosmético de la piel, que comprende al menos una etapa de administración, en o a través de la piel, de un gel de ácido hialurónico reticulado como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o de una composición como se define en la reivindicación 12.