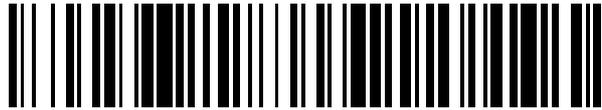


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 735 376**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 9/06</b>	(2006.01)
<b>A61P 19/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/728</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/10</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/10</b>	(2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.07.2008 PCT/FR2008/000948**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **26.02.2009 WO09024670**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.07.2008 E 08827889 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2019 EP 2173324**

54 Título: **Gel inyectable de ácido hialurónico para el tratamiento de la degeneración articular**

30 Prioridad:

**02.07.2007 FR 0704772**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**18.12.2019**

73 Titular/es:

**APTISSEN SA (100.0%)  
Chemin des Aulx 18  
1228 Plan-Les-Ouates, CH**

72 Inventor/es:

**GAVARD MOLLIARD, SAMUEL y  
BENOIT, OLIVIER**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**Observaciones :**

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

**ES 2 735 376 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

Gel inyectable de ácido hialurónico para el tratamiento de la degeneración articular

- 5 La invención se refiere a una formulación acuosa inyectable estéril en forma de gel compuesta de ácido hialurónico (o una de sus sales) con o sin otro(s) polisacárido(s) de origen natural y de uno o varios polioles. Esta formulación inyectable se utiliza de forma intra-articular en el tratamiento de las degeneraciones articulares.
- 10 Una articulación es una unión que permite unir dos huesos y darles una movilidad el uno con respecto al otro.
- 15 Las articulaciones sinoviales son las articulaciones más numerosas, especialmente a nivel de los miembros. En estas articulaciones, los huesos se unen por medio de una cavidad llena de un líquido al mismo tiempo viscoso y elástico denominado líquido sinovial.
- 20 El líquido sinovial es responsable del buen funcionamiento y de la protección de las articulaciones. Está constituido especialmente de un polisacárido, el ácido hialurónico, que confiere al líquido sinovial unas propiedades de viscoelasticidad que permiten, en función de las tensiones impuestas, la lubricación de la articulación o la absorción de los choques.
- 25 En el caso de las degeneraciones articulares como la artrosis de la rodilla (degeneraciones que se deben especialmente a factores como la obesidad, la herencia, los traumatismos, etc.), el líquido sinovial se degrada (disminución de la concentración y de la masa molecular del ácido hialurónico) y esta degradación reduce la capacidad del líquido sinovial para lubricar la articulación y para amortiguar los choques.
- 30 El tratamiento por viscosuplementación consiste en inyectar un gel en la articulación a fin de sustituir el líquido sinovial deficiente. La viscosuplementación puede atenuar o frenar el dolor y contribuir a restaurar la movilidad de la articulación.
- 35 Los productos de viscosuplementación actualmente en el mercado son unos geles que contienen ácido hialurónico. Estos geles pueden ser a base de ácido hialurónico de origen animal o no animal y reticulados (el caso de Synvisc<sup>®</sup>, Durolane<sup>®</sup>) o no reticulados (el caso de Synocrom<sup>®</sup>, Arthrum<sup>®</sup>, Lubravis<sup>®</sup>, Structovial<sup>®</sup>).
- 40 Es bien conocido por el experto en la técnica que la remanencia de un gel a base de ácido hialurónico es baja en una articulación (de algunas horas hasta algunos días). Según Laurent "The Chemistry, biology and medical applications of hyaluronan and its derivatives, Wenner-Gren International series, Volumen 72", la vida media en una articulación de conejo de una solución con un 1% de hialuronano es de 12h y la de un gel con un 0,5% de Hylan B es de 9 días.
- 45 Esta baja remanencia (cinética de resorción rápida del gel dentro de la articulación) se explica por una degradación (por despolimerización) del ácido hialurónico. Los principales factores de degradación del ácido hialurónico en la articulación son la degradación radicalaria, la degradación térmica a 37°C y la degradación mecánica (la degradación enzimática no es un factor importante de degradación en la articulación). Aunque la eficacia terapéutica del viscosuplemento es de duración más larga que su tiempo de residencia en la articulación, la remanencia de un gel a base de ácido hialurónico en la articulación es un parámetro preponderante que reacciona a la eficacia del producto.
- 50 Así, cuanto más elevado sea el tiempo de residencia del gel a base de ácido hialurónico en la articulación, más eficaz será el tratamiento por viscosuplementación (disminución del dolor, ganancia de movilidad). En consecuencia, el aumento del tiempo de residencia (remanencia) de un gel dentro de la articulación es un punto capital para aumentar la eficacia de un tratamiento por viscosuplementación con la ayuda de un gel a base de ácido hialurónico.
- 55 Es bien conocido por el experto en la técnica que el aumento de la concentración de ácido hialurónico, la utilización de altas masas moleculares de ácido hialurónico y las técnicas de reticulación/injerto del ácido hialurónico permiten mejorar la remanencia de un gel a base de ácido hialurónico. Sin embargo, la optimización de los diferentes parámetros enumerados anteriormente no parece suficiente para permitir aumentar significativamente la remanencia de un gel a base de ácido hialurónico de forma intra-articular (la vida media, dentro de la articulación, de los geles actuales de viscosuplementación presentes en el mercado es como máximo sólo de algunos días).
- 60 El documento WP 2006/067608 describe una formulación acuosa que contiene ácido hialurónico y un poliol, en la que el poliol se utiliza como agente osmógeno y en la que el papel de la esterilización, si existe, no está evocada.
- 65 El documento EP 0499164 describe suspensiones de ácido hialurónico en polioles diferentes que, una vez implantadas en un organismo vivo, liberan los polioles absorbiendo el agua de los líquidos corporales para formar unos geles.
- El documento EP 0 297 860 describe una mezcla que contiene ácido hialurónico y glicerol que permite la preparación de un gel pero no describe ninguna esterilización. Además, el producto es de aplicación tópica.
- El documento US 5055 037 describe una solución/suspensión de hialuronato de sodio y de xilitol/glucosa, pero no precisa si está en forma de gel y si se ha esterilizado o no.

El documento US 5 972 909 describe unas soluciones de lavado de la articulación que contienen ácido hialurónico y glucosa que no están destinadas específicamente a dejarse en la articulación, a pesar de que su composición permite dejarlas allí sin riesgo de cantidades residuales.

5 El documento US 2003/0203 030 describe unas composiciones que forman unos hidrogeles después de la administración en un tejido vivo, por lo tanto que no sufre la esterilización requerida para obtener la propiedad reológica según la presente solicitud.

10 El documento FR 2 865 737 describe la preparación de un gel reticulado específico que no contiene poliol.

De manera muy inesperada y sorprendente, se ha puesto en evidencia:

15 - que la presencia de un poliol en una formulación acuosa estéril a base de ácido hialurónico permite aumentar significativamente la resistencia a las degradaciones de este gel

- implicando una fuerte afinidad del ácido hialurónico y del poliol dentro del gel estéril, una cinética lenta de liberación del poliol fuera del gel: esta afinidad entre el ácido hialurónico y el poliol implica una protección eficaz a largo plazo del gel por el poliol por un efecto sinérgico

20 - para una composición particular de una formulación acuosa de ácido hialurónico y de un poliol, la esterilización da a este gel unas propiedades viscoelásticas muy sorprendentes, por que reproducen prácticamente las propiedades viscoelásticas del líquido sinovial sano – estas propiedades reológicas particulares del gel se mantienen más tiempo a lo largo del tiempo gracias a la protección contra las degradaciones inducidas por la sinergia “ácido hialurónico/poliol”.

25 La presente invención consiste por lo tanto en una formulación acuosa inyectable. Esta formulación, utilizada en el tratamiento de las degeneraciones articulares, presenta en algunos casos (véanse los ejemplos 1 y 3)) una reología similar a la del líquido sinovial y siempre una resistencia incrementada a la degradación.

30 El ejemplo 4 muestra la mejor resistencia de un gel a base de ácido hialurónico y de un poliol cuando éste se somete a un ensayo de degradación radicalaria, térmica y mecánica. Esta mejor resistencia del gel a la degradación permite una remanencia más larga del gel inyectado de forma intraarticular.

35 El ejemplo 5 muestra la mejor resistencia de un gel a base de ácido hialurónico y de un poliol (no cubierto por la reivindicación 1) a la degradación térmica. Esta mejor resistencia del gel a la degradación térmica permite una remanencia más larga del gel inyectado de forma intra-articular, y una mejor estabilidad de la formulación durante el almacenamiento del producto antes de la utilización (punto importante para la duración de la caducidad del producto).

40 El ejemplo 8 demuestra la fuerte afinidad entre el ácido hialurónico y un poliol. Inyectado en la articulación, la fuerte afinidad entre el ácido hialurónico y el poliol permite una mejor resistencia del gel a la degradación a largo plazo por un efecto sinérgico. En efecto, en el caso de una inyección de una solución de poliol en la articulación, el lavado natural eliminará rápidamente la molécula (= poliol) de la articulación. En el caso de un gel a base de ácido hialurónico con poliol, la fuerte afinidad entre el ácido hialurónico y el poliol impedirá la liberación rápida del poliol fuera del gel (y por lo tanto su eliminación rápida fuera de la articulación) y permitir así una protección eficaz a largo plazo del gel por el poliol contra las degradaciones.

45 Los ejemplos 1 y 3 muestran una reología de un gel a base de ácido hialurónico y de un poliol similar a la del líquido sinovial.

50 La publicación MAZZUCCO D. *et al.*, “Rheology of joint fluid in total knee arthroplasty patients”, Journal of Orthopaedic Research, 1157-1163, 2002, indica que la frecuencia de crecimiento entre el módulo elástico  $G'$  y el módulo viscoso  $G''$  es igual a  $0,41 \pm 0,12$  Hz para un líquido sinovial sano (sin artrosis) de la rodilla. El valor de esta frecuencia de crecimiento se confirma por la publicación Fam *et al.*, “Rheological properties of synovial fluids”, Biorheology, 44, 59-74, 2007. En esta publicación, una figura presenta la frecuencia de cruzamiento entre los módulos  $G'$  y  $G''$  comprendida entre 0 y 10 Hz para un líquido sinovial que pertenece a una persona joven o mayor o también para un líquido sinovial artrósico.

55 - por debajo de 0,41 Hz:  $G'' > G'$ , el líquido sinovial es predominantemente viscoso, lo que implica una fuerte lubricación de la articulación cuando el paciente está en reposo.

60 - por encima de 0,41 Hz:  $G' > G''$ , el líquido sinovial es predominantemente elástico, lo que implica una fuerte absorción de los choques cuando el paciente corre o salta.

65 Según un aspecto de la presente invención, el gel constituido de una solución acuosa de ácido hialurónico (o de una de sus sales) con o sin otro(s) polisacárido(s) de origen natural y de uno o varios poliol(es) posee, después de la

esterilización, una frecuencia  $f_c$  de cruzamiento entre el módulo elástico  $G'$  y el módulo viscoso  $G''$  cercana a 0,41 Hz. Así, el gel posee unas propiedades viscoelásticas similares a las del líquido sinovial.

Así, según un aspecto de la presente invención:

- por debajo de  $f_c$ :  $G'' > G'$ , el gel se predominantemente viscoso con una lubricación eficaz de la articulación en reposo.
- por encima de  $f_c$ :  $G' > G''$ , el gel es predominantemente elástico con una absorción eficaz de los choques cuando el paciente corre o salta (protección de la articulación).

Según un aspecto de la presente invención, la frecuencia de cruzamiento está comprendida entre 0 y 10 Hz, preferentemente  $0,41 \pm 0,41$  Hz. Tal reología es, por lo tanto, apropiada para las tensiones mecánicas de las articulaciones y especialmente de la rodilla, de la cadera o de pequeñas articulaciones. Por lo tanto, presenta un gran interés en el tratamiento de la artrosis por viscosuplementación de la rodilla o de otras articulaciones.

Las figuras 3-5 muestran los módulos viscosos y elásticos de geles según un aspecto de la presente invención, mientras que las figuras 1 y 2 muestran los de geles no cubiertos por las reivindicaciones y las figuras 6-9 muestran los de geles del mercado. Las figuras 10 y 11 ilustran la cinética de degradación radicalaria, térmica y mecánica de geles y la afinidad ácido hialurónico/poliol.

La invención se refiere por lo tanto a la utilización de un gel acuoso inyectable estéril tal como se reivindica en la reivindicación 1.

El ácido hialurónico se obtiene preferiblemente por biofermentación, pero puede también ser de origen animal. Su masa molecular es de 0,1 a  $10 \times 10^6$  Da y preferentemente de 2 a  $3 \times 10^6$  Da.

La concentración de ácido hialurónico está comprendida entre 1 y 100 mg/ml y preferiblemente entre 10 y 25 mg/ml.

El o los polisacáridos de origen natural que pueden utilizarse en asociación con el ácido hialurónico se seleccionan por ejemplo entre el condroitina sulfato, el queratán, el queratán sulfato, la heparina, el heparán sulfato, la celulosa y sus derivados, el quitosán, los xantanos, los alginatos, y el conjunto de sus sales respectivas.

El ácido hialurónico, así como el o los polisacárido(s) de origen natural, puede ser reticulado o no reticulado, injertado o no injertado según las técnicas de reticulación/injerto descritas en la técnica anterior.

El o los polioles no cubiertos por las reivindicaciones podrían seleccionarse por ejemplo entre el glicerol, el eritritol, el xilitol, el lactitol, el maltitol o también las osas cíclicas tales como la glucosa.

La concentración en polioliol está comprendida entre 0,0001 y 100 mg/ml y preferiblemente entre 15 y 45 mg/ml.

La solución acuosa utilizada es preferiblemente una solución tamponada. La composición de esta solución tampón se selecciona a fin de obtener las propiedades físico-químicas (pH, osmolaridad) y reológicas deseadas.

Preferiblemente, la solución tampón seleccionada es una solución tampón fosfato.

Según la presente invención, la formulación se esteriliza por las técnicas bien conocidas por el experto en la técnica y preferiblemente en autoclave.

La formulación según la presente invención se utiliza por inyección en la articulación y la dosis inyectada puede estar comprendida entre 0,1 y 20 ml en función de la naturaleza de la articulación tratada.

A título ilustrativo, se dan aquí 2 formulaciones de geles viscoelásticos que se pueden preparar:

- gel viscoelástico a base de ácido hialurónico y de glicerol (no cubierto por las reivindicaciones)

Solución estéril compuesta de 20 mg/ml de ácido hialurónico ( $MM = 2,5 \times 10^6$  Da) y de 20 mg/ml de glicerol en un tampón fosfato.

- gel viscoelástico a base de ácido hialurónico y de sorbitol

Solución estéril compuesta de 20 mg/ml de ácido hialurónico ( $MM = 2,5 \times 10^6$  Da) y de 40 mg/ml de sorbitol en un tampón fosfato.

#### Ejemplos:

Se proponen unos ejemplos a fin de ilustrar la invención, pero no son de ninguna manera limitativos de dicha invención. Las formulaciones preparadas en los ejemplos siguientes son unos geles a base de hialuronato de sodio (NaHA) no reticulado o reticulado con poliol.

5 La preparación de los geles no reticulados o reticulados se efectúa según las técnicas bien conocidas por el experto en la técnica. El hialuronato de sodio utilizado para fabricar estos geles posee una masa molecular igual a  $2,5 \times 10^6$  Da. En el caso de los geles reticulados, el reticulante utilizado es el BDDE y la definición del porcentaje de reticulación utilizado es: masa(BDDE)/masa (NaHA seco).

10 La incorporación del poliol en el gel se efectúa añadiendo la cantidad necesaria de poliol en el gel no reticulado o reticulado y mezclando con espátula durante 10 minutos (para 100 g de gel final).

Los geles preparados se rellenan en jeringas de vidrio y después se esterilizan con calor húmedo ( $T = 121^\circ\text{C}$ ).

15 El reómetro utilizado para efectuar las mediciones reológicas es un AR100 (TA instruments) con una geometría plana de 40 mm, un gap de 1000 micrones y una temperatura de análisis de  $37^\circ\text{C}$ .

La evaluación de los polioles se efectúa por una HPLC Ultimate 3000 (Dionex) y una columna intercambiadora de iones.

20

### **Ejemplo 1: Preparación de formulaciones inyectables estériles**

Las formulaciones A y B no están cubiertas por las reivindicaciones.

25 Formulación A: gel a base de NaHA no reticulado con glicerol

- 15 mg de NaHA a  $2,5 \times 10^6$  Da

- 20 mg de glicerol

30

- Csp 1 ml de tampón fosfato

Formulación B: gel a base de NaHA no reticulado con glicerol

35 - 20 mg de NaHA a  $2,5 \times 10^6$  Da

- 20 mg de glicerol

- Csp 1 ml de tampón fosfato

40

Las formulaciones C, D, E y F están cubiertas por las reivindicaciones.

Formulación C: gel a base de NaHA no reticulado con propilenglicol

45 - 20 mg de NaHA a  $2,5 \times 10^6$  D

- 15 mg de propilenglicol

- Csp 1 ml de tampón fosfato

50

Formulación D: gel a base de NaHA no reticulado con manitol

- 20 mg de NaHA a  $2,5 \times 10^6$  Da

55 - 15 mg de manitol

- Csp 1 ml de tampón fosfato

Formulación E: gel a base de NaHA no reticulado con sorbitol

60

- 20 mg de NaHA a  $2,5 \times 10^6$  Da

- 40 mg de sorbitol

65 - Csp 1 ml de tampón fosfato

Formulación F: gel a base de NaHA reticulado con sorbitol

- 18 mg de NaHA a  $2,5 \times 10^6$  Da, porcentaje de reticulación = 6%

5 - 50 mg de sorbitol

- Csp 1 ml de tampón fosfato

**Ejemplo 2: Propiedades fisicoquímicas de las formulaciones del ejemplo 1**

10

- pH (a temperatura ambiente)

Formulación	pH
A (no cubierta)	7,0
B (no cubierta)	7,2
C	7,1
D	7,0
E	7,1
F	7,1

- osmolaridad

15

Formulación	osmolaridad (mOsm/kg)
A (no cubierta)	335
B (no cubierta)	322
C	324
D	315
E	326
F	338

Las formulaciones A, B, C, D, E y F son isotónicas y poseen un pH neutro.

**Ejemplo 3: Propiedades reológicas de las formulaciones del ejemplo 1**

20

Las propiedades viscoelásticas de las formulaciones A, B, C, D y E se caracterizan midiendo la evolución del módulo viscoso ( $G''$ ) y del módulo elástico ( $G'$ ) en función de la frecuencia (véanse las figuras 1 a 5).

25

Para estas 5 formulaciones, se constata que la frecuencia de cruzamiento del módulo  $G'$  y del módulo  $G''$  es similar a la del líquido sinovial sano.

La tabla siguiente da los valores de frecuencia de cruzamiento  $f_c$  para cada formulación y para el líquido sinovial sano.

Formulación	Frecuencia de cruzamiento $f_c$ (Hz)
A (no cubierta)	0,50
B (no cubierta)	0,32
C	0,32
D	0,32
E	0,33
Líquido sinovial sano ( <i>publicación de Mazzucco D. et al.</i> )	$0,41 \pm 0,12$

30

Como se ha descrito en la presente invención:

- por debajo de  $f_c$ :  $G'' > G'$ , el gel es predominantemente viscoso con una lubricación eficaz de la articulación en reposo.

35

- por encima de  $f_c$ :  $G' > G''$ , el gel es predominantemente elástico con una absorción de los choques cuando el paciente corre o salta

**Ejemplo 4: Resistencia a las degradaciones de las formulaciones del ejemplo 1**

40

Para demostrar que la presencia de un poliol en un gel a base de NaHA permite reducir la degradación del gel por una acción radicalaria, térmica y mecánica, se ha comparado la resistencia a la degradación de geles a base de NaHA con poliol (formulaciones del ejemplo 1) y la resistencia a la degradación de geles a base de NaHA sin poliol (= geles de referencias).

Para las formulaciones B, C, D y E del ejemplo 1, el gel de referencia a base de NaHA sin poliol es un gel a base de NaHA no reticulado a 20 mg/ml de NaHA ( $MM = 2,5 \times 10^6$  D, en un tampón fosfato) – formulación G.

5 Para la formulación F del ejemplo 1, el gel de referencia a base de NaHA sin poliol es un gel a base de NaHA reticulado a 18 mg/ml de NaHA ( $MM=2,5 \times 10^6$  D antes de la reticulación, en un tampón fosfato) que posee un porcentaje de reticulación del 6% - formulación H.

10 El ensayo de degradación se efectúa añadiendo un oxidante en el gel a ensayar, homogeneizando con espátula durante 1 minuto, colocándose a la temperatura de 37°C e imponiendo una deformación del 0,3%. El valor del parámetro  $Tan\delta=G''/G'$  a 0,7Hz (parámetro característico de las propiedades viscoelásticas del gel) se mide a lo largo del tiempo.

15 Se constata que este parámetro aumenta a lo largo del tiempo, sinónimo de una desestructuración progresiva del gel. Los valores medidos a  $t=0$  y  $t=15$  minutos para las formulaciones B, C, D, E, F, G y H se dan en la tabla siguiente.

Formulación	Tan $\delta$ (t = 0 min)	Tan $\delta$ (t = 15 min)	$\Delta$ Tan $\delta$ (%)
B (no cubierta)	1,10	3,34	+ 204%
C	1,08	3,13	+ 205%
D	1,19	4,63	+ 289%
E	1,08	2,57	+ 138%
F	0,74	0,80	+8%
G	1,41	6,56	+ 365%
H (ref.)	0,74	0,93	+26%

20 Como se describe en la presente invención, cada formulación B, C, D y E posee una resistencia a las degradaciones significativamente más importante que la del gel sin poliol (formulaciones G). Asimismo, la formulación F posee una resistencia a las degradaciones significativamente más importante que la del gel correspondiente sin poliol (formulaciones H).

En consecuencia, los polioles protegen el gel de manera eficaz contra las degradaciones.

25 **Ejemplo 5: Estudio de envejecimiento acelerado de una formulación con y sin poliol**

Dos formulaciones se someten a envejecimiento acelerado en estufa a 40°C:

- formulación B (no cubierta por las reivindicaciones) del ejemplo 1: solución a base de ácido hialurónico y de glicerol
- 30 - formulación G sin adición de alcohol (descrita en el ejemplo 4)
  - 20 mg de ácido hialurónico a  $2,5 \times 10^6$  Da
  - Csp 1 ml de tampón fosfato

35 Se efectúa una medición de la viscosidad cero (viscosidad de cizallamiento nulo) y una determinación de la frecuencia  $f_c$  de cruzamiento entre el módulo elástico  $G'$  y el módulo viscoso  $G''$  en 3 tiempos ( $t = 0, 7$  días, 26 días)

40 Los resultados obtenidos se dan en la tabla siguiente:

Número de días de envejecimiento a 40°C	Formulación	Viscosidad cero	Variación de viscosidad cero con respecto a (%)	$f_c$ (Hz)	Variación de $f_c$ con respecto a (%)
0 día	B	252	/	0,32	/
	G	192	/	0,39	/
7 días	B	*ND	/	0,32	0%
	G	*ND	/	0,39	0%
26 días	B	210	-17%	0,37	+ 16%
	G	143	-26%	0,50	+ 28%

\*ND: no determinado

45 Se constata que, durante el envejecimiento acelerado, la pérdida de viscosidad cero y el desplazamiento de la frecuencia de cruzamiento  $f_c$  son menos importantes en el caso de la formulación B (formulación según la presente invención) que en el caso de la formulación sin poliol (formulación G).

**Ejemplo 6: Comparación de la reología de 4 productos comerciales de viscosuplementación y de una formulación obtenida según la presente invención.**

Los productos ensayados son los siguientes:

Producto	Nombre comercial	Fabricante	Concentración en ácido hialurónico (mg/ml)	Masa molecular del ácido hialurónico (Da)	Método de esterilización
P1	Synocrom®	CROMA PHARMA	10	2,2 - 2,7.10 <sup>6</sup>	calor húmedo
P2	Structovial®	CROMA PHARMA	10	2,2 - 2,7.10 <sup>6</sup>	calor húmedo
P3	Fermathron®	HYALTECH	10	1.10 <sup>6</sup>	filtración
P4	Lubravisc®	BOHUS BIOTECH	10	4.10 <sup>6</sup>	calor húmedo
Formulación D del ejemplo 1	No aplicable	No aplicable	20 (+ 15 mg/ml de manitol)	2,5.10 <sup>6</sup>	calor húmedo

5 Para los 5 geles ensayados, las figuras 6-9 dan los módulos viscosos ( $G''$ ) y elástico ( $G'$ ) en función de la frecuencia.

Se constata que sólo el gel según el ejemplo 1 presenta una frecuencia de cruzamiento (0,32 Hz) similar a la del líquido sinovial sano (0,41 Hz).

10 La tabla siguiente agrupa los valores de las frecuencias de cruzamiento  $f_c$  para los productos P1 a P4 y para la formulación A del ejemplo 1.

Producto	$f_c$ (Hz)
Formulación D del ejemplo 1	0,32
P1	5,8
P2	5,0
P3	6,3
P4	0,09

15 Se sabe, según la publicación de Mazzucco D. *et al.* (citada anteriormente) que la frecuencia de cruzamiento del líquido sinovial sano (0,41 Hz) está por debajo de las frecuencias observadas en la rodilla al caminar (0,7 Hz) y al correr (3 Hz).

20 Para los productos P1 a P3, la frecuencia de cruzamiento es muy superior a 3 Hz y en consecuencia, los productos no presentan una fuerte elasticidad que permita la absorción de los choques cuando la rodilla está en movimiento.

El producto P4 tiene una muy baja frecuencia de cruzamiento, el módulo elástico es superior al módulo viscoso sobre toda la gama de frecuencia 0,1 – 10 Hz. En consecuencia, la elasticidad es importante cuando la rodilla está en movimiento pero la lubricación de la articulación es poco eficaz cuando el paciente está en reposo.

25 **Ejemplo 7: Comparación de la resistencia a las degradaciones de 3 productos comerciales de viscosuplementación y de una formulación obtenida según la presente invención**

Los productos ensayados son los siguientes:

Producto	Nombre comercial	Fabricante	Concentración en ácido hialurónico (mg/ml)
T1	Arthrum®	LCA Pharmaceutical	20
T2	Ostenil®	TRB Chemedica	10
T3	Synocrom®	CROMA PHARMA	10
Formulación E del ejemplo 1	No aplicable	No aplicable	20 (+ 40 mg/ml de sorbitol)

30 El ensayo de degradación se efectúa según el método descrito en el ejemplo 4.

El valor del parámetro  $G'$  a 0,7 Hz se rastrea a lo largo del tiempo.

35 Las curvas de reología así obtenidas se dan en la figura 10.

Se constata que el gel según la presente invención se degrada significativamente menos rápidamente que los 3 productos comerciales ensayados.

**Ejemplo 8: Puesta en evidencia de la fuerte afinidad ácido hialurónico/poliol**

A fin de demostrar la fuerte afinidad entre el ácido hialurónico y el polioliol y por lo tanto la protección del gel por el polioliol a largo plazo, se ha efectuado un estudio de seguimiento de la liberación de un polioliol por diálisis.

5 Se introducen 5 g de la formulación E (gel a base de 20 mg/ml de NaHA no reticulado y de 40 mg/ml de sorbitol – ejemplo 1) en una membrana (nº 1) de diálisis (Spectra/Pore®, MWCO: 12-14,000).

10 Se introducen 5 g de solución tampón de fosfato que contiene 40 mg/ml de sorbitol en una 2ª membrana (nº 2) de diálisis (Spectra/Pore®, MWCO: 12-14,000) – misma dimensión que la membrana nº 1.

15 Estas membranas se disponen en unos frascos respectivos que contienen 50 g de agua purificada (= baño de diálisis) bajo agitación magnética. Se efectúan unas mediciones de concentración en sorbitol por HPLC en los baños de diálisis a diferentes tiempos a fin de vigilar la cinética de liberación del sorbitol fuera de la membrana con gel o solución tampón.

Las curvas de seguimiento de la concentración en sorbitol a lo largo del tiempo se dan en la figura 11.

20 La cinética de liberación del sorbitol en un gel es significativamente más lenta que en una solución tampón.

Este estudio pone en evidencia la sinergia entre el ácido hialurónico y el polioliol presente en el gel: la fuerte afinidad ácido hialurónico/polioliol permite al polioliol estar presente dentro del gel sobre un largo periodo y la capacidad de protección del polioliol frente al gel permite obtener una fuerte resistencia a largo plazo del gel contra las degradaciones.

25

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Utilización de un gel acuoso inyectable estéril de polisacárido(s) de origen natural que contiene ácido hialurónico o una de sus sales en una cantidad de 1 a 100 mg/ml y eventualmente uno u otros varios polisacáridos de origen natural, y uno o varios polioles seleccionados entre el propilenglicol, el sorbitol, el manitol solo o en mezcla, a una cantidad de 0,0001 a 100 mg/ml, después de la esterilización con calor efectuada en autoclave de la mezcla de polisacárido(s) y de poliol(es), poseyendo el gel obtenido una frecuencia de cruzamiento del módulo elástico  $G'$  y del módulo viscoso  $G''$  comprendida entre 0 y 10 Hz, preferentemente entre  $0,41 \pm 0,41$  Hz, siendo  $G'$  superior a  $G''$  a alta frecuencia, para la preparación de una formulación inyectable utilizada en el tratamiento de las degeneraciones articulares por inyección intra-articular.
- 10
2. Utilización según la reivindicación 1, en la que el ácido hialurónico es no reticulado o sustancialmente no reticulado.
- 15 3. Utilización según la reivindicación 1, en la que el ácido hialurónico es reticulado.
4. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el ácido hialurónico o una de sus sales está presente en una cantidad de 10 a 25 mg/ml y el o los polioles están presentes en una cantidad de 15 a 45 mg/ml.
- 20 5. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el ácido hialurónico (o una de sus sales) solo o en mezcla tiene una masa molecular de 0,1 a  $10 \times 10^6$  Da.
6. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el ácido hialurónico tiene una masa molecular de 2 a  $3 \times 10^6$  Da.
- 25 7. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el ácido hialurónico está presente en una cantidad de 20 mg/ml y el sorbitol está presente en una cantidad de 40 mg/ml.
- 30 8. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la formulación se inyecta a razón de 0,1 a 20 ml.

Figura 1. Barrido en frecuencia, formulación A

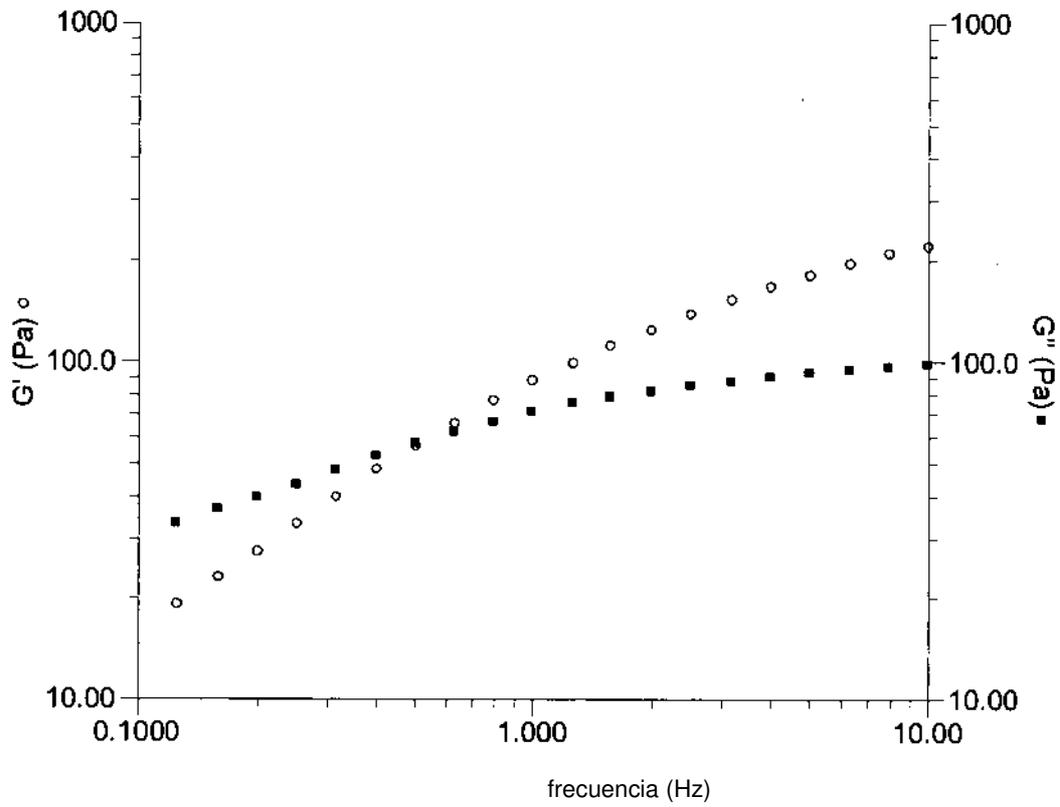


Figura 2. Barrido en frecuencia, formulación B

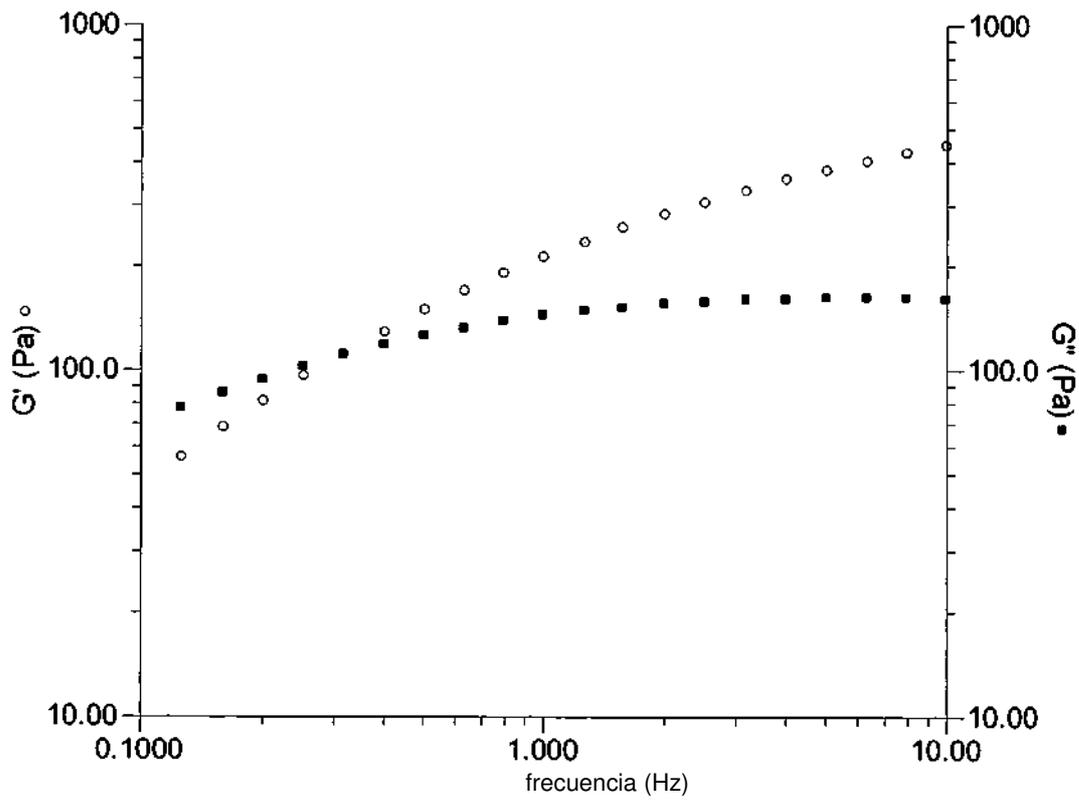


Figura 3. Barrido en frecuencia, formulación C

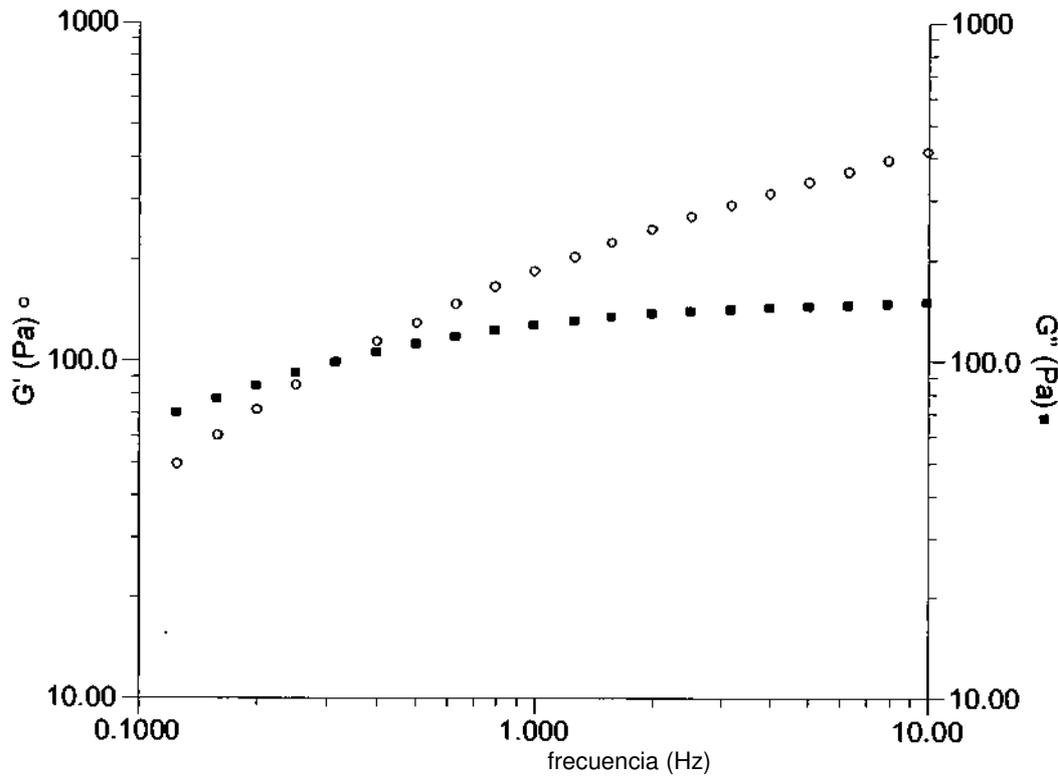


Figura 4. Balayage en frecuencia - formulation D

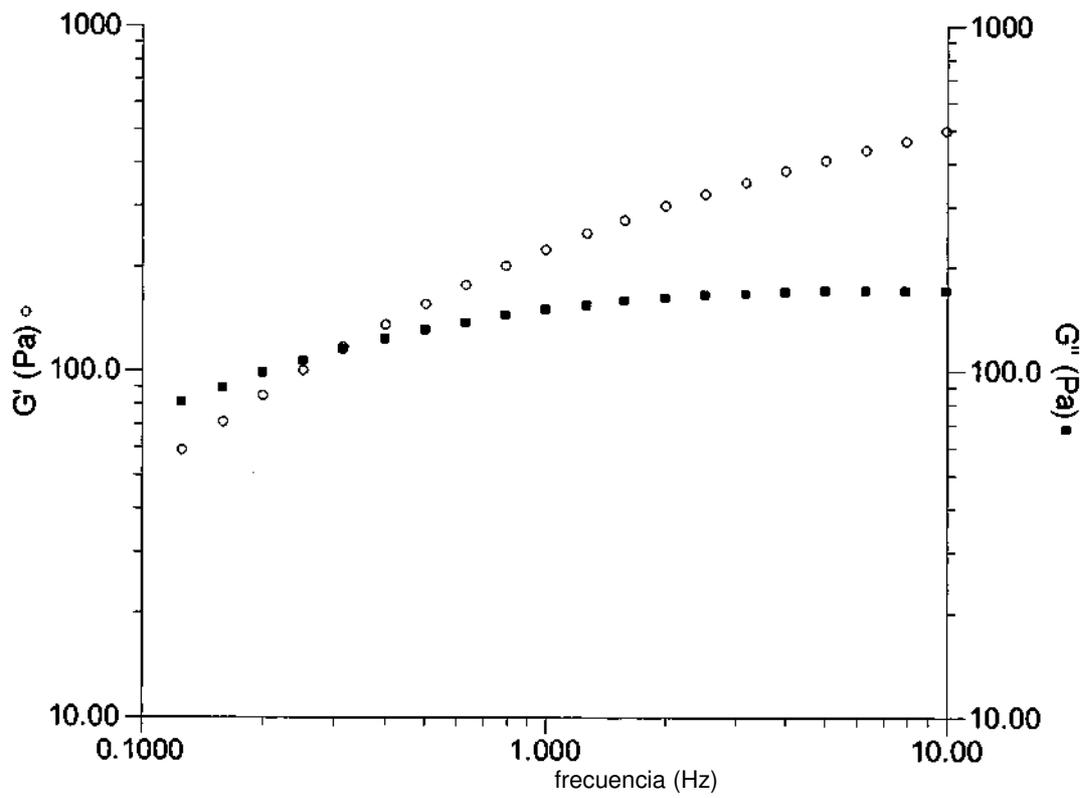


Figura 5. Barrido en frecuencia, formulación E

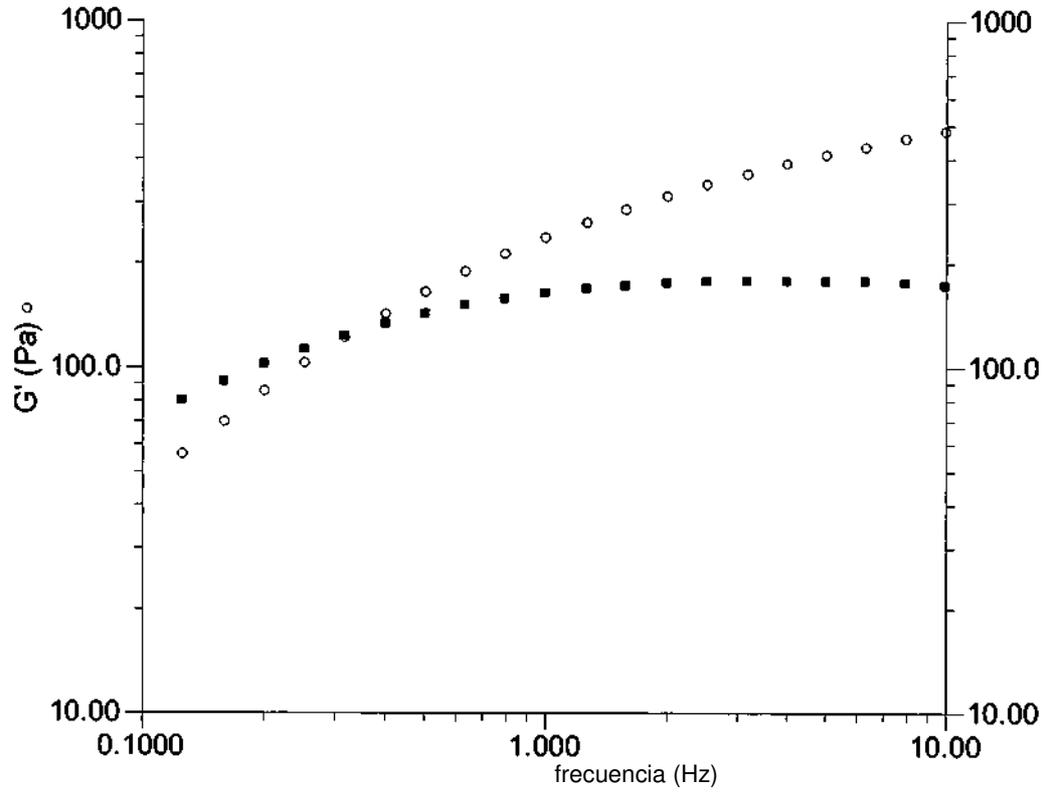


Figura 6. Barrido en frecuencia, formulación P1

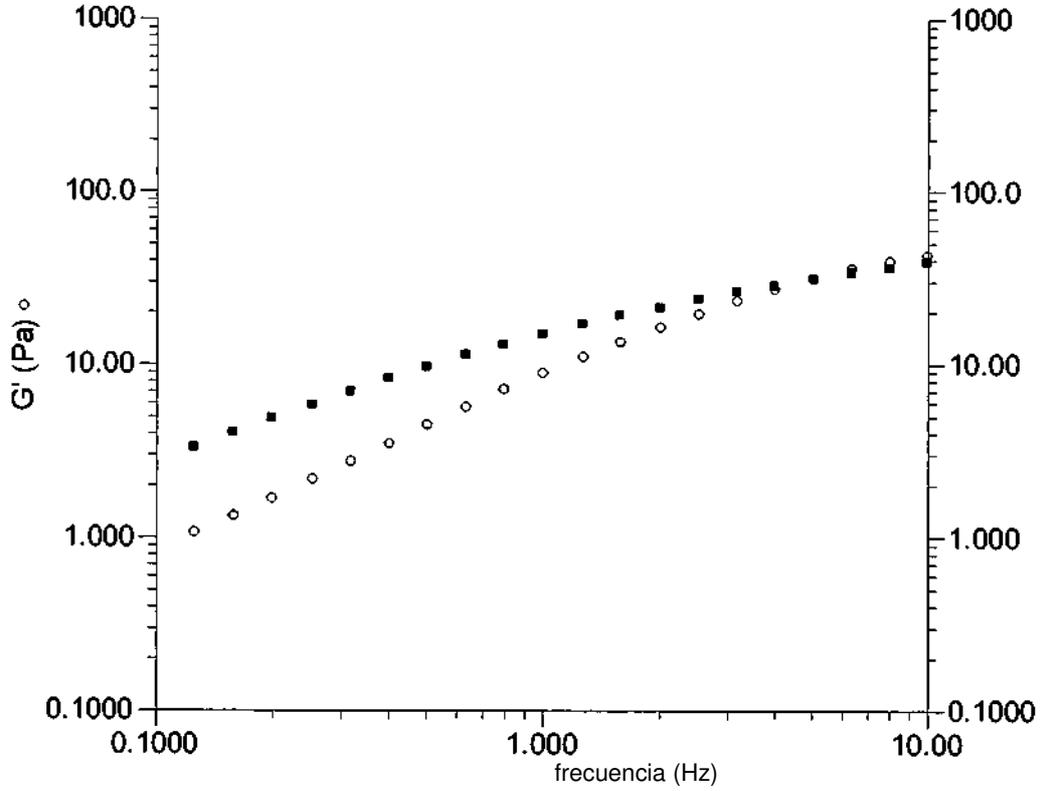


Figura 7. Barrido en frecuencia, formulación P2

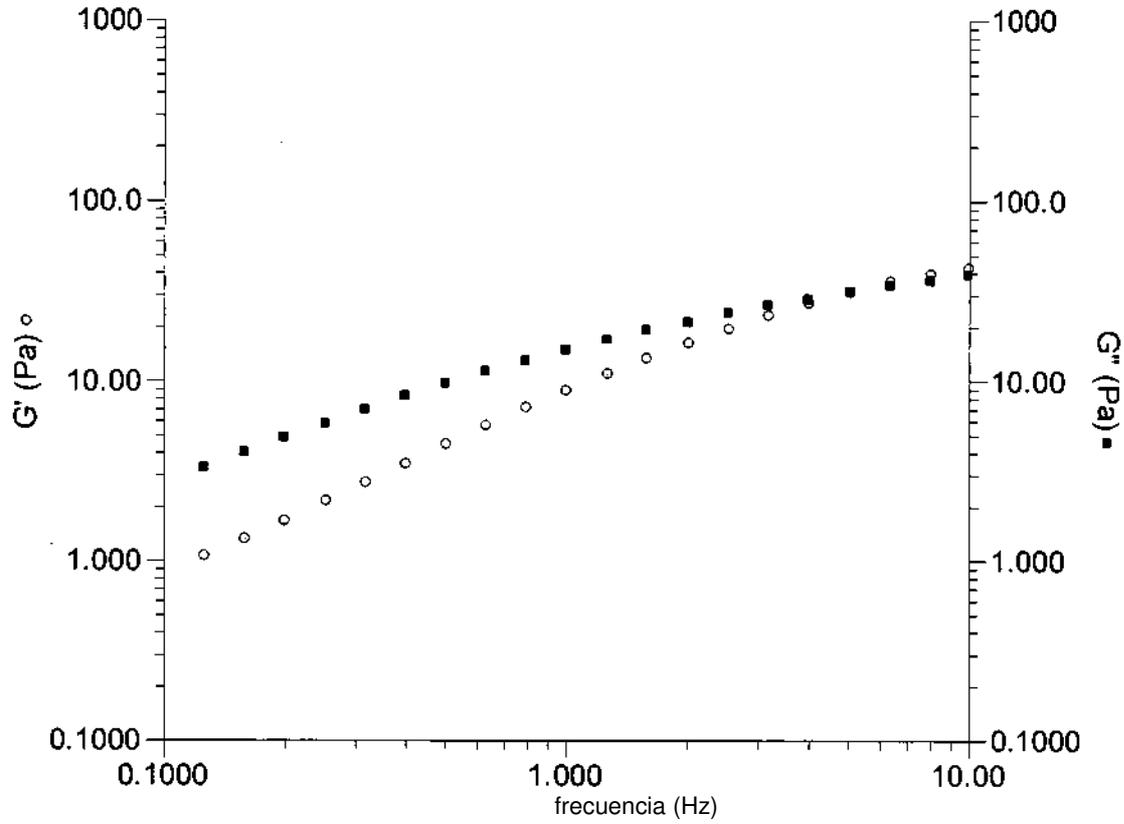


Figura 8. Barrido en frecuencia, formulación P3

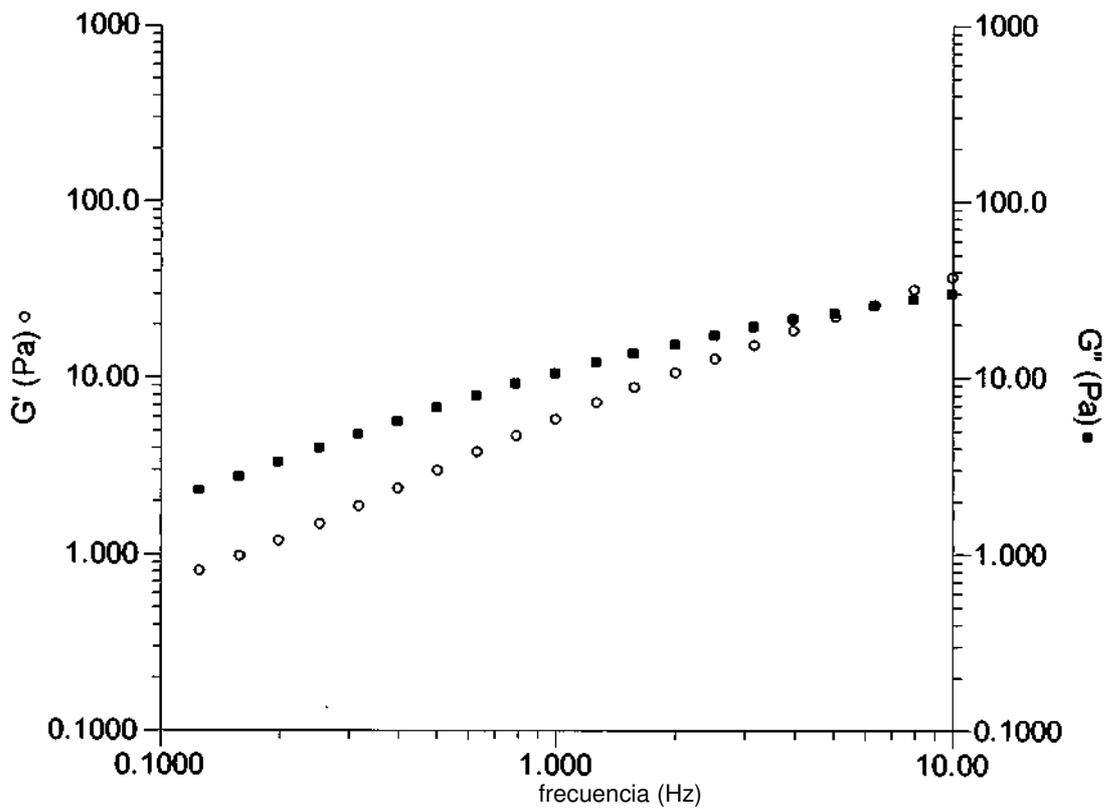


Figura 9. Barrido en frecuencia, formulación P4

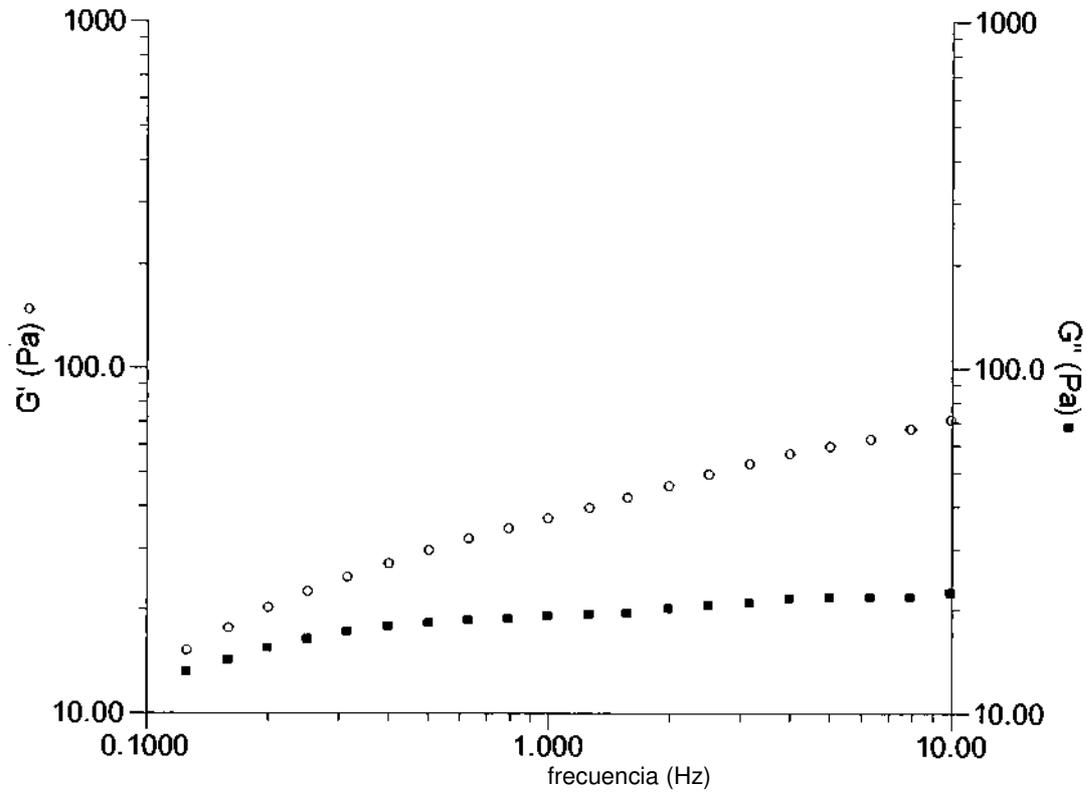


Figura 10. Cinética de degradación por los radicales libres de un gel según la invención y de 3 productos comerciales

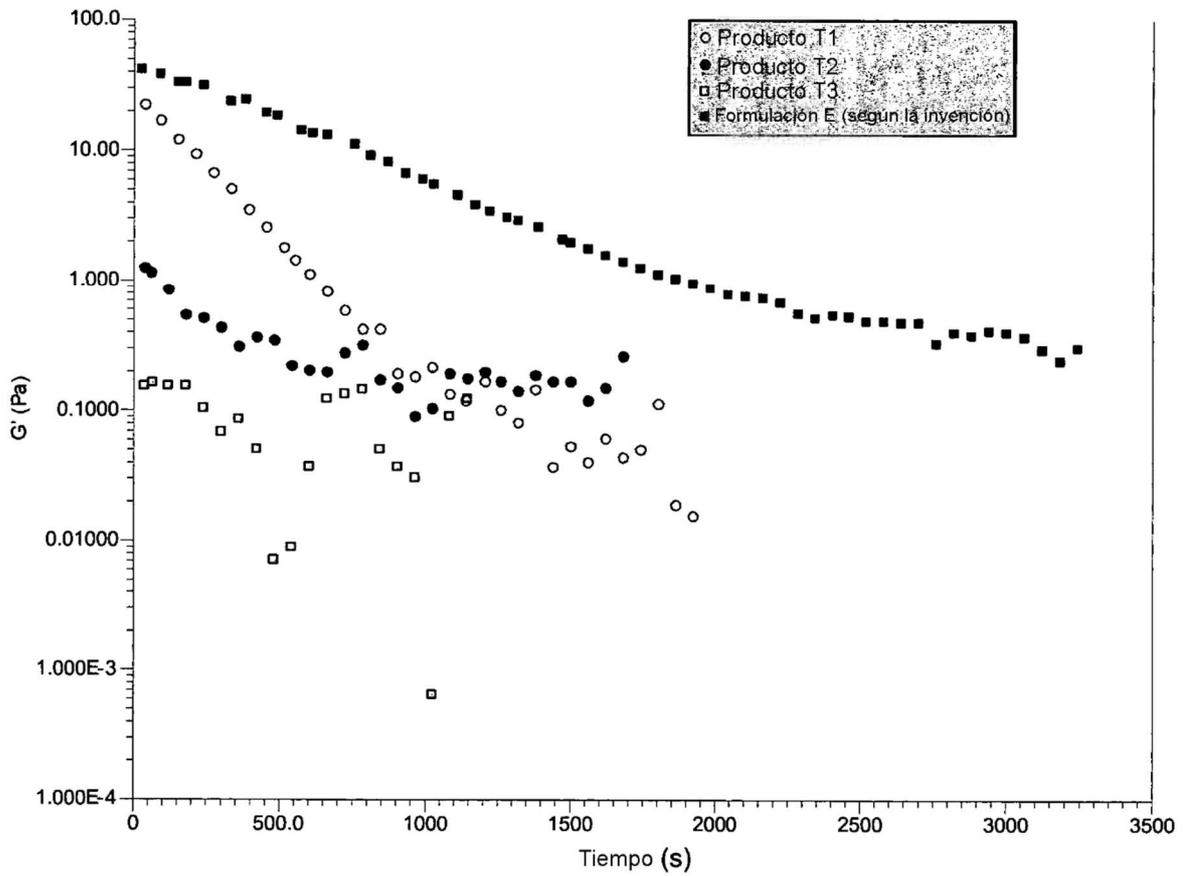


Figura 11. Puesta en evidencia de la fuerte afinidad ácido hialurónico/poliol

