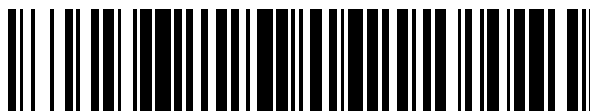


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 777 176**

51 Int. Cl.:

A61K 8/73	(2006.01)
A61Q 19/08	(2006.01)
A61K 8/67	(2006.01)
A61L 27/20	(2006.01)
A61L 27/50	(2006.01)
C08B 37/08	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.08.2012 PCT/US2012/052125**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.02.2013 WO13028904**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.08.2012 E 12761839 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2019 EP 2747747**

54 Título: **Composiciones de material de relleno dérmico que incluyen antioxidantes**

30 Prioridad:

25.08.2011 US 201161527335 P
01.06.2012 US 201213486754

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

04.08.2020

73 Titular/es:

ALLERGAN INDUSTRIE, SAS (100.0%)
Route de Promery, Zone Artisanale de Pré-Mairy
Pringy 74370 ANNECY, FR

72 Inventor/es:

LIU, FUTIAN;
YU, XIAOJIE;
WINER, JESSAMINE, P.;
MANESIS, NICHOLAS, J.;
LIU, HENGLI y
NJIKANG, GABRIEL

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 777 176 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

Composiciones de material de relleno dérmico que incluyen antioxidantes

5 Solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica prioridad a y el beneficio de la solicitud de patente provisional estadounidense n.º 61/527.335, presentada el 25 de agosto de 2011, y es una continuación en parte de la solicitud de patente estadounidense con n.º de serie 13/486.754, presentada el 1 de junio de 2012, que reivindica prioridad a y el beneficio de la solicitud de patente provisional estadounidense n.º 61/493.309, presentada el 3 de junio de 2011.

Antecedentes

La presente invención se refiere generalmente a composiciones de material de relleno dérmico, y más específicamente se refiere a composiciones de material de relleno dérmico inyectables con fines estéticos y sanitarios.

El envejecimiento de la piel es un fenómeno progresivo que se produce con el tiempo y que puede verse afectado por factores del estilo de vida, tales como el consumo de alcohol, tabaco y la exposición solar. El envejecimiento del cutis puede caracterizarse por atrofia, aflojamiento y engorde. La atrofia corresponde a una reducción masiva del espesor del tejido cutáneo. El aflojamiento de los tejidos subcutáneos conduce a un exceso de piel y ptosis y conduce a la aparición de pómulos y párpados caídos. El engorde se refiere a un aumento de peso en exceso por la inflamación de la parte inferior de la cara y el cuello. Estos cambios se asocian normalmente con sequedad, pérdida de elasticidad y textura rugosa.

Idealmente, los materiales de relleno dérmico inyectables deben tener las siguientes propiedades: biocompatibilidad; seguridad; estabilidad en el sitio de implante; y la capacidad de mantener su volumen, permanecer elástico, inducir reacciones con cuerpos extraños mínimas y no provocar granuloma por cuerpos extraños. Se han usado muchos materiales de relleno dérmico, incluyendo grasa autóloga, colágeno bovino, parafina, silicona líquida, politetrafluoroetileno (Teflon, DuPont, Wilmington, Del.) y partículas de silicona y polímero. Los problemas con los injertos incluyen supervivencia desigual, resorción variable, formación de nódulos y morbilidad del sitio donante.

Por estos motivos, se han desarrollado materiales de relleno de suspensión de partículas poliméricas y se usan con bastante frecuencia. Los materiales de relleno compuestos de materiales reabsorbibles incluyen colágeno, ácido hialurónico, polimetilacrilato, dextrano, sustancias de poli(ácido láctico) y, en las últimas décadas, aquellos que consisten en fluidos viscosos o suspensiones de partículas poliméricas. Estos materiales de relleno se han usado para corregir defectos de tejidos blandos, así como para rellenar el volumen de tejidos blandos alrededor de los labios y la región nasolabial.

Los materiales de relleno dérmico disponibles actualmente pueden subcategorizarse ampliamente como no biodegradables (permanentes) o biodegradables (temporales). Los materiales biodegradables pueden subdividirse además en aquellos de duración intermedia o larga. Los materiales de relleno permanentes o no reabsorbibles se encapsulan con tejido fibroso y escapan a la fagocitosis. Los ejemplos de materiales de relleno dérmico permanentes incluyen silicona líquida (por ejemplo, Silikon®), partículas de silicio sólidas en suspensión (por ejemplo, Bioplastique®), microesferas de poli(metacrilato de metilo) con colágeno bovino (por ejemplo, Artecoll®), partículas de hidrogel acrílico con ácido hialurónico no modificado (por ejemplo, Dermalive®), hidroxiapatita de calcio (por ejemplo, Radiesse®, denominada actualmente Radiance), y diversas formulaciones de gel de poli(acrilamida) (por ejemplo, Aquamid®). Muchos de estos materiales de relleno permanentes se asocian con un riesgo de reacciones de tipo cuerpo extraño tardías.

Los materiales de relleno a medio plazo comunes, aquellos que se reabsorben después de varios meses, incluyen derivados de ácido hialurónico, poli(ácidos lácticos) e hidroxiapatita de calcio [CaHA]. Los materiales de relleno reabsorbibles se fagocitan finalmente.

Los materiales de relleno dérmico biodegradables se basan comúnmente en ácido hialurónico (HA), también denominado hialuronano. El hialuronano es un glicosaminoglucano no sulfatado que se distribuye ampliamente por todo el cuerpo humano en los tejidos conjuntivo, epitelial y nervioso. El hialuronano es abundante en las diferentes capas de la piel, donde tiene múltiples funciones tales como, por ejemplo, garantizar una buena hidratación, ayudar en la organización de la matriz extracelular, actuar como material de relleno; y participar en mecanismos de reparación tisular. Sin embargo, con la edad, disminuye la cantidad de hialuronano, colágeno, elastina y otros polímeros de la matriz presentes en la piel. Por ejemplo, la exposición repetida a luz ultravioleta, por ejemplo, del sol, provoca tanto que las células dérmicas disminuyan su producción de hialuronano así como que aumenten la velocidad de su degradación. Esta pérdida de hialuronano da como resultado diversos estados cutáneos tales como, por ejemplo, imperfecciones, defectos, enfermedades y/o trastornos, y similares. Por ejemplo, existe una fuerte correlación entre el contenido de agua en la piel y los niveles de hialuronano en el tejido dérmico. A medida que envejece la piel, se reduce la cantidad y la calidad de hialuronano en la piel. Estos cambios conducen a la sequedad

y la formación de arrugas de la piel.

Originalmente, las composiciones de material de relleno dérmico que comprenden hialuronano se elaboraban a partir de polímeros que se producen de manera natural, que existen en un estado no reticulado. Aunque muestran excelente biocompatibilidad y afinidad por moléculas de agua, el hialuronano que se produce de manera natural muestra malas propiedades biomecánicas como material de relleno dérmico. Un motivo principal es porque este polímero no está reticulado, es altamente soluble y, como tal, se aclara rápidamente cuando se administra en una región de la piel. Este aclaramiento *in vivo* se logra principalmente por la rápida degradación de los polímeros, principalmente degradación enzimática por medio de hialuronidasa y degradación química por medio de radicales libres. Por tanto, mientras todavía están en uso comercial, las composiciones que comprenden polímeros de hialuronano no reticulados tienden a degradarse en un plazo de unos pocos días tras su administración y, por tanto, requieren reinyección con bastante frecuencia para mantener su efecto de mejora de la piel.

Para minimizar el efecto de estas rutas de degradación *in vivo*, los polímeros de la matriz se reticulan entre sí para formar un hidrogel estabilizado. Dado que los hidrogeles que comprenden polímeros de la matriz reticulados son una sustancia más sólida, los materiales de relleno dérmico que comprenden tales hidrogeles permanecen en su lugar en el sitio del implante por más tiempo. Además, estos hidrogeles son más adecuados como material de relleno dérmico porque la naturaleza más sólida de los mismos mejora las propiedades mecánicas del material de relleno, permitiendo que el material de relleno levante y rellene mejor una región de la piel. Los polímeros de hialuronano se reticulan normalmente con un agente de reticulación para formar enlaces covalentes entre los polímeros de hialuronano. Tales polímeros reticulados forman una red de hidrogel menos soluble en agua que es más resistente a la degradación y, por tanto, requiere reinyección con menor frecuencia que las composiciones de hialuronano no reticuladas.

La vitamina C, también denominada ácido ascórbico o AsA, se conoce bien como un antioxidante que reduce, y por tanto neutraliza, especies de oxígeno reactivas tales como peróxido de hidrógeno, reduciendo de ese modo el estrés oxidativo para diversos beneficios clínicos, incluyendo el tratamiento de enfermedad cardiovascular, hipertensión, enfermedades inflamatorias crónicas, diabetes y estados con quemaduras graves. Por ejemplo, entre otros beneficios, la vitamina C actúa como antiinflamatorio, y promueve la colagénesis y la angiogénesis. Se sabe que la vitamina C promueve la colagénesis y/o la angiogénesis funcionando como un cofactor en reacciones enzimáticas para promover la formación de colágeno, el desarrollo y el mantenimiento de vasos sanguíneos y cartílago. Se sabe que la vitamina C inhibe funciones biológicas de la tirosinasa para prevenir la formación de melanina o aclarar la pigmentación de melanina.

La vitamina C es generalmente inestable tras su exposición al aire, la luz y el calor. También se considera citotóxica en determinados niveles. La vitamina C se derivatiza normalmente a una forma estable para aplicaciones cosméticas. Existen unas pocas formas de vitamina C estabilizada. Los ejemplos son 2-glucósido de ácido L-ascórbico (AA2G), 3-aminopropilfosfato de ascorbilo (Vitagen), fosfato de ascorbilo y sodio (AA2P), etc. Cuando la vitamina C (por ejemplo, derivado de vitamina C AA2G) se mezcla físicamente con gel de ácido hialurónico y se inyecta en la piel, la vitamina C se libera completamente de la mezcla en menos de una semana.

Sería deseable proporcionar una composición a base de ácido hialurónico inyectable con vitamina C, u otra vitamina, que tenga una tasa de liberación sostenida, es decir, una tasa de liberación a lo largo de semanas o incluso meses en lugar de unos pocos días. Sin embargo, ha resultado difícil desarrollar productos de material de relleno dérmico de liberación sostenida estables y eficaces que incluyan vitaminas. La presente invención proporciona composiciones de material de relleno dérmico a base de ácido hialurónico mejoradas que incluyen vitaminas conjugadas, por ejemplo, derivados de vitamina.

Sumario

La presente invención proporciona materiales de relleno dérmico nuevos útiles para tratar estados cutáneos. Más específicamente, la presente invención proporciona composiciones de material de relleno dérmico terapéuticas eficaces y de larga duración que comprenden generalmente un polímero biocompatible, concretamente ácido hialurónico, y un derivado de vitamina C, tal como se define adicionalmente en las reivindicaciones.

En la invención, el polímero es ácido hialurónico. El ácido hialurónico incluye un componente reticulado. La vitamina es un derivado de vitamina C. Más específicamente, la vitamina C es al menos uno de 2-glucósido de ácido L-ascórbico (AA2G), 3-aminopropilfosfato de ascorbilo (Vitagen) y fosfato de ascorbilo y sodio (AA2P).

Las vitaminas se definen generalmente como cualquiera de un grupo de compuestos orgánicos que son esenciales para el crecimiento normal y la nutrición, y se requieren en pequeñas cantidades en la dieta porque no pueden sintetizarse por el organismo.

En un aspecto de la invención, la vitamina comprende un derivado de vitamina C conocido con el nombre AA2G, disponible de Hayashibara Company, Ltd, Okayama, Japón. Estos y otros compuestos adecuados se describen en detalle en la patente estadounidense n.º 5.843.907, expedida el 1 de diciembre de 1998, la patente estadounidense

n.º 5.767.149, expedida el 16 de junio de 1998, la patente estadounidense n.º 5.137.723, expedida el 11 de agosto de 1992.

5 En un aspecto de la invención, la vitamina es un derivado de vitamina, y se conjuga de manera covalente con el polímero mediante un procedimiento de reacción adecuado, por ejemplo, eterificación, amidación y esterificación.

El grado de conjugación se define en las reivindicaciones.

10 En otro aspecto de la invención, se proporcionan métodos de elaboración de composiciones de material de relleno dérmico inyectables que incluyen ácido hialurónico reticulado y vitamina C conjugados.

15 En un aspecto de la invención, el material de relleno dérmico inyectable que se compone de ácido hialurónico reticulado y vitamina C conjugada muestra una liberación sostenida de vitamina C activa en condiciones enzimáticas endógenas. Las enzimas endógenas típicas son α -glucosidasa, fosfatasa y hialuronidasa.

En otro aspecto de la invención, la vitamina C activa liberada de los materiales de relleno dérmico inyectables tiene efectos antienvjecimiento funcionando como eliminador de radicales libres.

20 En aún otro aspecto de la invención, la vitamina C activa liberada del material de relleno dérmico inyectable estimula la colagénesis interfacial entre el gel y la superficie de contacto del tejido.

En aún otro aspecto de la invención, se proporcionan métodos para tratar un defecto cutáneo, incluyendo la introducción en la piel de una composición según la invención.

25 El HA de alto peso molecular tal como se usa en el presente documento, describe generalmente un ácido hialurónico que tiene un peso molecular de al menos aproximadamente 1,0 millón de Dalton ($PM \geq 10^6$ Da o 1 MDa) a aproximadamente 4,0 MDa. Por ejemplo, el HA de alto peso molecular en las presentes composiciones puede tener un peso molecular de aproximadamente 2,0 MDa. En otro ejemplo, el HA de alto peso molecular puede tener un peso molecular de aproximadamente 2,8 MDa.

30 El HA de bajo peso molecular tal como se usa en el presente documento, describe generalmente un ácido hialurónico que tiene un peso molecular de menos de aproximadamente 1,0 MDa. El HA de bajo peso molecular puede tener un peso molecular de entre aproximadamente 200.000 Da (0,2 MDa) y menos de aproximadamente 1,0 MDa, por ejemplo, entre aproximadamente 200.000 Da (0,2 MDa) y aproximadamente 990.000 Da (0,99 MDa), por ejemplo, entre aproximadamente 300.000 Da (0,3 M Da) y aproximadamente 750.000 Da (0,75 MDa).

Breve descripción de los dibujos

40 La figura 1 es una representación de la estructura de 2-glucósido de ácido L-ascórbico (AA2G)

La figura 2 es una representación de la estructura de 3-aminopropilfosfato de ascorbilo (Vitagen).

La figura 3 es una representación de la estructura de fosfato de ascorbilo y sodio (AA2P).

45 La figura 4 es una representación de la estructura de diglicidil éter de 1,4-butanodiol (BDDE).

La figura 5 es una representación de la estructura de glicidil éter de pentaeritritol (epóxido de PEG en estrella).

50 La figura 6 es una representación de la estructura de (3-aminopropil) éter de pentaeritritol (amina de PEG en estrella).

La figura 7 es una tabla que muestra grados de conjugación y valores de G' para diversas composiciones de material de relleno dérmico según la invención.

55 La figura 8 es una tabla que muestra grados de conjugación, concentración de HA y valores de G' para composiciones de material de relleno dérmico de HA-AA2G(BDDE) según la invención.

La figura 9 es una tabla que muestra el efecto de la concentración de α -glucosidasa sobre la liberación de AsA de la disolución de AA2G-PBS.

60 La figura 10 muestra una representación de un perfil de liberación de AsA libre de materiales de relleno dérmico conjugados según la invención (liberación sostenida) (conversión de AA2G en % en moles frente a tiempo de reacción).

65 La figura 11A muestra datos de liberación de AsA adicionales para formulaciones de HA-AA2G de la invención con G' y grado de conjugación variables según la invención.

La figura 11B es una descripción de formulaciones de HA-AA2G de la figura 11A, según la invención.

La figura 12 es la liberación de AA2G de la mezcla física de HA/AA2G y el conjugado HA-AA2G según la invención.

La figura 13 es una ilustración esquemática que muestra un método, incluyendo un ensayo *in vitro*, útil para medir la producción de colágeno.

La figura 14 ilustra la indicación de contenido de colágeno, medido mediante la absorbancia de luz roja, como parte del método mostrado en la figura 13.

La figura 15 es el resultado de la concentración relativa de colágeno tipo 1 en función de la distancia del límite gel/tejido, para diversos geles de HA.

La figura 16 es un gráfico de barras que muestra en el eje x tres composiciones diferentes y en el eje y la concentración relativa (medida en porcentaje en peso) de la penetración de colágeno tipo I en un bolo de cada una de las tres composiciones implantadas en ratas, tal como se observa cuatro semanas tras la implantación del bolo.

Descripción detallada

En un aspecto de la invención, se proporcionan composiciones de material de relleno dérmico, comprendiendo las composiciones generalmente un polímero biocompatible, concretamente un ácido hialurónico (reticulado), y un derivado de vitamina C conjugado de manera covalente con el polímero tal como se define en las reivindicaciones. La composición proporciona liberación sostenida de la vitamina C para la neocolagénesis de la piel, así como otros beneficios terapéuticos o cosméticos. Cuando se introduce en la piel, por ejemplo, por vía intradérmica, la composición reacciona con enzimas endógenas en el organismo, y a lo largo del tiempo, se genera vitamina C bioactiva *in vivo*, por medio de escisiones enzimáticas. A medida que se libera vitamina C de la composición a lo largo de un periodo de semanas o meses, sus beneficios asociados se ponen a disposición del organismo.

En un aspecto de referencia a modo de ejemplo, el polímero es glicosaminoglicano. La composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede comprender además dos o más polímeros de glicosaminoglicano diferentes. Tal como se usa en el presente documento, el término "glicosaminoglicano" es sinónimo de "GAG" y "mucopolisacárido" y se refiere a largos polisacáridos no ramificados que consisten en unidades de repetición de disacárido. La unidad de repetición consiste en una hexosa (azúcar de seis carbonos) o un ácido hexurónico, ligado a una hexosamina (azúcar de seis carbonos que contiene nitrógeno) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los miembros de la familia de GAG varían en el tipo de unidad de hexosamina, hexosa o ácido hexurónico que contienen, tal como, por ejemplo, ácido glucurónico, ácido idurónico, galactosa, galactosamina, glucosamina) y también pueden variar en la geometría de la unión glicosídica. Cualquier polímero de glicosaminoglicano es útil en las composiciones de hidrogel divulgadas en el presente documento con la condición de que el polímero de glicosaminoglicano mejore un estado de la piel. El glicosaminoglicano de la invención es un hialuronano. Los ejemplos no limitativos de una sal aceptable de un glicosaminoglicano incluyen sales de sodio, sales de potasio, sales de magnesio, sales de calcio, y combinaciones de las mismas. El glicosaminoglicano y sus polímeros resultantes útiles en las composiciones de hidrogel y los métodos divulgados en el presente documento se describen en, por ejemplo, Piron y Tholin, Polysaccharide Crosslinking, Hydrogel Preparation, Resulting Polysaccharide(s) and Hydrogel(s), uses Thereof, publicación de patente estadounidense 2003/0148995; Lebreton, Cross-Linking of Low and High Molecular Weight Polysaccharides Preparation of Injectable Monophase Hydrogels; Lebreton, Viscoelastic Solutions Containing Sodium Hyaluronate and Hydroxypropyl Methyl Cellulose, Preparation and Uses, publicación de patente estadounidense 2008/0089918; Lebreton, Hyaluronic Acid-Based Gels Including Lidocaine, publicación de patente estadounidense 2010/0028438; y Polysaccharides and Hydrogels thus Obtained, publicación de patente estadounidense 2006/0194758; y Di Napoli, Composition and Method for Intradermal Soft Tissue Augmentation, publicación de patente internacional WO 2004/073759. Los GAG útiles en las composiciones de hidrogel y los métodos divulgados en el presente documento están disponibles comercialmente, tal como, por ejemplo, materiales de relleno dérmico a base de hialuronano JUVEDERM®, JUVEDERM® 30, JUVEDERM® Ultra, JUVEDERM® Ultra Plus, JUVEDERM® Ultra XC y JUVEDERM® Ultra Plus XC (Allergan Inc, Irvine, California). La tabla 1 enumera GAG representativos.

Tabla 1. Ejemplos de GAG				
Nombre	Ácido hexurónico/hexosa	Hexosamina	Geometría de unión glicosídica	Características únicas
Sulfato de condroitina	GlcUA o GlcUA (2S)	GalNAc o GalNAc (4S) o GalNAc (6S) o GalNAc (4S,6S)	-4GlcUAβ1-3GalNAcβ1-	GAG más frecuente
Sulfato de dermatano	GlcUA o IdoUA o IdoUA (2S)	GalNAc o GalNAc (4S) o GalNAc (6S) o GalNAc	-4IdoUAβ1-3GalNAcβ1-	Se distingue del sulfato de condroitina por la presencia de ácido idurónico, aunque algunos

		(4S,6S)		monosacáridos de ácido hexurónico pueden ser ácido glucurónico.
Sulfato de queratano	Gal o Gal (6S)	GlcNAc o GlcNAc (6S)	-3Gal(6S) β 1-4GlcNAc(6S) β 1-	El sulfato de queratano tipo II puede estar fucosilado.
Heparina	GlcUA o IdoUA (2S)	GlcNAc o GlcNS o GlcNAc (6S) o GlcNS (6S)	-4IdoUA(2S) α 1-4GlcNS(6S) α 1-	La densidad de carga negativa más alta de cualquier molécula biológica conocida
Sulfato de heparano	GlcUA o IdoUA o IdoUA (2S)	GlcNAc o GlcNS o GlcNAc (6S) o GlcNS (6S)	-4GlcUA β 1-4GlcNAc α 1-	Altamente similar en estructura a la heparina, sin embargo, las unidades de disacárido de sulfatos de heparano están organizadas en distintos dominios sulfatados y no sulfatados.
Hialuronano	GlcUA	GlcNAc	-4GlcUA β 1-3GlcNAc β 1-	El único GAG que es exclusivamente no sulfatado
GlcUA = ácido β -D-glucurónico GlcUA (2S) = ácido 2-O-sulfo- β -O-glucurónico IdoUA = ácido α -L-idurónico IdoUA (2S) = ácido 2-O-sulfo- α -L-idurónico Gal = β -D-galactosa Gal (6S) = 6-O-sulfo- β -D-galactosa GalNAc = β -D-N-acetilgalactosamina GalNAc (4S) = 4-O-sulfato de β -D-N-acetilgalactosamina GalNAc (6S) = 6-O-sulfato de β -D-N-acetilgalactosamina GalNAc (4S, 6S) = 4-O, 6-O-sulfato de β -D-N-acetilgalactosamina GlcNAc = α -D-N-acetilglucosamina GlcNS = α -D-N-sulfoglucosamina GlcNS (6S) = 6-O-sulfato de α -D-N-sulfoglucosamina				

- Aspectos de la presente invención proporcionan una composición de hidrogel que comprende un polímero de hialuronano. Tal como se usa en el presente documento, el término “polímero de ácido hialurónico” es sinónimo de “polímero de HA”, “polímero de ácido hialurónico”, y “polímero de hialuronato” se refiere a un polímero de glicosaminoglicano aniónico, no sulfatado que comprende unidades de disacárido, las cuales incluyen ellas mismas monómeros de ácido D-glucurónico y D-N-acetilglucosamina, unidos juntos por medio de enlaces glicosídicos β -1,4 y β -1,3 alternantes y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los polímeros de hialuronano pueden purificarse a partir de fuentes animales y no animales. Los polímeros de hialuronano pueden oscilar en tamaño de desde aproximadamente 5.000 Da hasta aproximadamente 20.000.000 Da. Cualquier polímero de hialuronano es útil en las composiciones divulgadas en el presente documento con la condición de que el hialuronano mejore un estado de la piel. Los ejemplos no limitativos de sales farmacéuticamente aceptables de hialuronano incluyen hialuronano de sodio, hialuronano de potasio, hialuronano de magnesio, hialuronano de calcio, y combinaciones de los mismos.
- Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel que comprende un polímero de glicosaminoglicano reticulado. Tal como se usa en el presente documento, el término “reticulado” se refiere a los enlaces intermoleculares que unen las moléculas de polímero individuales, o cadenas monoméricas, en una estructura más estable como un gel. Como tal, un polímero de glicosaminoglicano reticulado tiene al menos un enlace intermolecular que une al menos una molécula de polímero individual con otra. La reticulación de polímeros de glicosaminoglicano da como resultado normalmente la formación de un hidrogel. Tales hidrogeles tienen alta viscosidad y requieren una fuerza considerable para extruirlos a través de una aguja fina. Los polímeros de glicosaminoglicano divulgados en el presente documento pueden reticularse usando agentes de reticulación de dialdehídos y disulfuros incluyendo, sin limitación, agentes de reticulación a base de PEG multifuncionales, divinilsulfonas, diglicidil éteres y bis-epóxidos, bis-carbodiimida. Los ejemplos no limitativos de agentes de reticulación de hialuronano incluyen agentes de reticulación a base de PEG multifuncionales como tetraglicidil éter de pentaeritrol (PETGE), divinilsulfona (DVS), diglicidil éter de 1,4-butanodiol (BDDE), 1,2-bis(2,3-epoxipropoxi)etileno (EGDGE), 1,2,7,8-diepoxi octano (DEO), fenileno-bis-(etil)-carbodiimida y 1,6 hexametileno-bis(etilcarbodiimida), dihidrazida adípica (ADH), suberato de bis(sulfosuccinimidilo) (BS), hexametilendiamina (HMDA), 1-(2,3-epoxipropil)-2,3-epoxiciclohexano, o combinaciones de los mismos. Otros agentes de reticulación útiles se divulgan en Stroumpoulis y Tezel, Tunably Crosslinked Polysaccharide Compositions, solicitud de patente estadounidense 12/910.466, presentada el 22 de octubre de 2010. Los ejemplos no limitativos de métodos de reticulación de polímeros de glicosaminoglicano se describen en, por ejemplo, polímeros de glicosaminoglicano útiles en las composiciones y los métodos divulgados en el presente documento se describen en, por ejemplo, Piron y Tholin, Polysaccharide Crosslinking, Hydrogel Preparation, Resulting Polysaccharide(s) and Hydrogel(s), uses Thereof, publicación de patente estadounidense 2003/0148995; Lebreton, Cross-Linking of Low and High Molecular Weight Polysaccharides Preparation of Injectable Monophase Hidrogeles; Lebreton, Viscoelastic Solutions Containing

Sodium Hyaluronate and Hydroxypropyl Methyl Cellulose, Preparation and Uses, publicación de patente estadounidense 2008/0089918; Lebreton, Hyaluronic Acid-Based Gels Including Lidocaine, publicación de patente estadounidense 2010/0028438; y Polysaccharides and Hidrogels thus Obtained, publicación de patente estadounidense 2006/0194758; y Di Napoli, Composition and Method for Intradermal Soft Tissue Augmentation, publicación de patente internacional WO 2004/073759.

Según la presente memoria descriptiva, “%” en una formulación se define como porcentaje en peso por peso (es decir, p/p). Como ejemplo: el 1% (p/p) significa una concentración de 10 mg/g.

En un aspecto de referencia, una composición de hidrogel comprende un polímero de glicosaminoglicano reticulado en la que el polímero de glicosaminoglicano reticulado está presente en una cantidad suficiente para mejorar un estado de la piel tal como se divulga en el presente documento. En la invención, una composición comprende un polímero de hialuronano reticulado. En otros aspectos de esta realización, una composición comprende un glicosaminoglicano reticulado en la que el glicosaminoglicano reticulado representa, por ejemplo, aproximadamente el 1% en peso, aproximadamente el 2% en peso, aproximadamente el 3% en peso, aproximadamente el 4% en peso, aproximadamente el 5% en peso, aproximadamente el 6% en peso, aproximadamente el 7% en peso, aproximadamente el 8% en peso, o aproximadamente el 9%, o aproximadamente el 10% en peso, del glicosaminoglicano total presente en la composición. En aún otros aspectos de esta realización, una composición comprende un glicosaminoglicano reticulado en la que el glicosaminoglicano reticulado representa, por ejemplo, como máximo el 1% en peso, como máximo el 2% en peso, como máximo el 3% en peso, como máximo el 4% en peso, como máximo el 5% en peso, como máximo el 6% en peso, como máximo el 7% en peso, como máximo el 8% en peso, como máximo el 9% en peso, o como máximo el 10% en peso, del glicosaminoglicano total presente en la composición. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición comprende un glicosaminoglicano reticulado en la que el glicosaminoglicano reticulado representa, por ejemplo, de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 20% en peso, de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 17% en peso, de aproximadamente el 3% a aproximadamente el 15% en peso, o de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 10% en peso, por ejemplo, aproximadamente el 11% en peso, aproximadamente el 15% en peso o aproximadamente el 17% en peso, del glicosaminoglicano total presente en la composición.

En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel comprende un glicosaminoglicano reticulado en la que el glicosaminoglicano reticulado está presente a una concentración de, por ejemplo, aproximadamente 2 mg/g, aproximadamente 3 mg/g, aproximadamente 4 mg/g, aproximadamente 5 mg/g, aproximadamente 6 mg/g, aproximadamente 7 mg/g, aproximadamente 8 mg/g, aproximadamente 9 mg/g, aproximadamente 10 mg/g, aproximadamente 11 mg/g, aproximadamente 12 mg/g, aproximadamente 13 mg/g, aproximadamente 13,5 mg/g, aproximadamente 14 mg/g, aproximadamente 15 mg/g, aproximadamente 16 mg/g, aproximadamente 17 mg/g, aproximadamente 18 mg/g, aproximadamente 19 mg/g, o aproximadamente 20 mg/g. En otros aspectos de esta realización, una composición comprende un glicosaminoglicano reticulado en la que el glicosaminoglicano reticulado está presente a una concentración de, por ejemplo, al menos 1 mg/g, al menos 2 mg/g, al menos 3 mg/g, al menos 4 mg/g, al menos 5 mg/g, al menos 10 mg/g, al menos 15 mg/g, al menos 20 mg/g, o al menos 25 mg/g, o aproximadamente 40 mg/g. En aún otros aspectos de esta realización, una composición comprende un glicosaminoglicano reticulado en la que el glicosaminoglicano reticulado está presente a una concentración de, por ejemplo, como máximo 1 mg/g, como máximo 2 mg/g, como máximo 3 mg/g, como máximo 4 mg/g, como máximo 5 mg/g, como máximo 10 mg/g, como máximo 15 mg/g, como máximo 20 mg/g, como máximo 25 mg/g, o como máximo 40 mg/g. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición comprende un glicosaminoglicano reticulado en la que el glicosaminoglicano reticulado está presente a una concentración de, por ejemplo, de aproximadamente 7,5 mg/g a aproximadamente 19,5 mg/g, de aproximadamente 8,5 mg/g a aproximadamente 18,5 mg/g, de aproximadamente 9,5 mg/g a aproximadamente 17,5 mg/g, de aproximadamente 10,5 mg/g a aproximadamente 16,5 mg/g, de aproximadamente 11,5 mg/g a aproximadamente 15,5 mg/g, o de aproximadamente 12,5 mg/g a aproximadamente 14,5 mg/g, hasta aproximadamente 40 mg/g.

Aspectos de la presente invención proporcionan una composición de hidrogel que comprende polímeros de hialuronano de bajo peso molecular, polímeros de hialuronano de alto peso molecular, o polímeros de hialuronano de peso molecular tanto bajo como alto. Tal como se usa en el presente documento, el término “alto peso molecular” cuando se refiere a “hialuronano” se refiere a polímeros de hialuronano que tienen un peso molecular medio de 1.000.000 Da o más. Los ejemplos no limitativos de polímeros de hialuronano de alto peso molecular incluyen polímeros de hialuronano de aproximadamente 1.500.000 Da, aproximadamente 2.000.000 Da, aproximadamente 2.500.000 Da, aproximadamente 3.000.000 Da, aproximadamente 3.500.000 Da, aproximadamente 4.000.000 Da, aproximadamente 4.500.000 Da, y aproximadamente 5.000.000 Da. Tal como se usa en el presente documento, el término “bajo peso molecular” cuando se refiere a “hialuronano” se refiere a polímeros de hialuronano que tienen un peso molecular medio de menos de 1.000.000 Da. Los ejemplos no limitativos de polímeros de hialuronano de bajo peso molecular incluyen polímeros de hialuronano de aproximadamente 200.000 Da, aproximadamente 300.000 Da, aproximadamente 400.000 Da, aproximadamente 500.000 Da, aproximadamente 600.000 Da, aproximadamente 700.000 Da, de aproximadamente 800.000 Da, y aproximadamente 900.000 Da.

En una realización, una composición comprende polímeros de hialuronano reticulados de bajo peso molecular. En aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano reticulados que tienen un peso

molecular medio de, por ejemplo, aproximadamente 100.000 Da, aproximadamente 200.000 Da, aproximadamente 300.000 Da, aproximadamente 400.000 Da, aproximadamente 500.000 Da, aproximadamente 600.000 Da, aproximadamente 700.000 Da, aproximadamente 800.000 Da, o aproximadamente 900.000 Da. En aún otros aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano reticulados que tienen un peso molecular medio de, por ejemplo, como máximo 100.000 Da, como máximo 200.000 Da, como máximo 300.000 Da, como máximo 400.000 Da, como máximo 500.000 Da, como máximo 600.000 Da, como máximo 700.000 Da, como máximo 800.000 Da, como máximo 900.000 Da, o como máximo 950.000. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano reticulados que tienen un peso molecular medio de, por ejemplo, de aproximadamente 100.000 Da a aproximadamente 500.000 Da, de aproximadamente 200.000 Da a aproximadamente 500.000 Da, de aproximadamente 300.000 Da a aproximadamente 500.000 Da, de aproximadamente 400.000 Da a aproximadamente 500.000 Da, de aproximadamente 500.000 Da a aproximadamente 950.000 Da, de aproximadamente 600.000 Da a aproximadamente 950.000 Da, de aproximadamente 700.000 Da a aproximadamente 950.000 Da, de aproximadamente 800.000 Da a aproximadamente 950.000 Da, de aproximadamente 300.000 Da a aproximadamente 600.000 Da, de aproximadamente 300.000 Da a aproximadamente 700.000 Da, de aproximadamente 300.000 Da a aproximadamente 800.000 Da, o de aproximadamente 400.000 Da a aproximadamente 700.000 Da.

En otra realización, una composición comprende polímeros de hialuronano reticulados de alto peso molecular. En aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano reticulados que tienen un peso molecular medio de, por ejemplo, aproximadamente 1.000.000 Da, aproximadamente 1.500.000 Da, aproximadamente 2.000.000 Da, aproximadamente 2.500.000 Da, aproximadamente 3.000.000 Da, aproximadamente 3.500.000 Da, aproximadamente 4.000.000 Da, aproximadamente 4.500.000 Da, o aproximadamente 5.000.000 Da. En aún otros aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano reticulados que tienen un peso molecular medio de, por ejemplo, al menos 1.000.000 Da, al menos 1.500.000 Da, al menos 2.000.000 Da, al menos 2.500.000 Da, al menos 3.000.000 Da, al menos 3.500.000 Da, al menos 4.000.000 Da, al menos 4.500.000 Da, o al menos 5.000.000 Da. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano reticulados que tienen un peso molecular medio de, por ejemplo, de aproximadamente 1.000.000 Da a aproximadamente 5.000.000 Da, de aproximadamente 1.500.000 Da a aproximadamente 5.000.000 Da, de aproximadamente 2.000.000 Da a aproximadamente 5.000.000 Da, de aproximadamente 2.500.000 Da a aproximadamente 5.000.000 Da, de aproximadamente 3.000.000 Da a aproximadamente 5.000.000 Da, de aproximadamente 3.500.000 Da, o de aproximadamente 2.000.000 Da a aproximadamente 4.000.000 Da.

En aún otra realización, una composición comprende polímeros de hialuronano reticulados en la que los polímeros de hialuronano reticulados comprenden una combinación tanto de polímeros de hialuronano de alto peso molecular como de polímeros de hialuronano de bajo peso molecular, en diversas razones. En aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano reticulados en la que los polímeros de hialuronano reticulados comprenden una combinación tanto de polímeros de hialuronano de alto peso molecular como de polímeros de hialuronano de bajo peso molecular en una razón de aproximadamente 20:1, aproximadamente 15:1, aproximadamente 10:1, aproximadamente 5:1, aproximadamente 1:1, aproximadamente 1:5 aproximadamente 1:10, aproximadamente 1:15, o aproximadamente 1:20.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel que comprende un polímero de glicosaminoglicano reticulado que tiene un grado de reticulación. Tal como se usa en el presente documento, el término "grado de reticulación" se refiere al porcentaje de unidades monoméricas de polímero de glicosaminoglicano, tales como, por ejemplo, las unidades monoméricas de disacárido de hialuronano que se unen al agente de reticulación. El grado de reticulación se expresa como el porcentaje de razón en peso del agente de reticulación con respecto a glicosaminoglicano.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel que comprende un polímero de glicosaminoglicano no reticulado. Tal como se usa en el presente documento, el término "no reticulado" se refiere a una falta de enlaces intermoleculares que unen las moléculas de polímero de glicosaminoglicano individuales, o cadenas monoméricas. Como tal, un polímero de glicosaminoglicano no reticulado no se une a ningún otro polímero de glicosaminoglicano mediante un enlace intermolecular. En aspectos de esta realización, una composición comprende un polímero de sulfato de condroitina no reticulado, un polímero de sulfato de dermatano no reticulado, un polímero de sulfato de queratano no reticulado, un polímero de heparano no reticulado, un polímero de sulfato de heparano no reticulado, o un polímero de hialuronano no reticulado. Los polímeros de glicosaminoglicano no reticulados son solubles en agua y generalmente permanecen fluidos en la naturaleza. Como tal, los polímeros de glicosaminoglicano no reticulados se mezclan a menudo con una composición de hidrogel a base de polímero de glicosaminoglicano como lubricante para facilitar el procedimiento de extrusión de la composición a través de una aguja fina.

En una realización, una composición comprende un polímero de glicosaminoglicano no reticulado en la que el polímero de glicosaminoglicano no reticulado está presente en una cantidad suficiente para mejorar un estado de la piel tal como se divulga en el presente documento. En aspectos de esta realización, una composición comprende un glicosaminoglicano no reticulado en la que el glicosaminoglicano no reticulado está presente a una concentración de,

5 por ejemplo, aproximadamente 2 mg/g, aproximadamente 3 mg/g, aproximadamente 4 mg/g, aproximadamente 5 mg/g, aproximadamente 6 mg/g, aproximadamente 7 mg/g, aproximadamente 8 mg/g, aproximadamente 9 mg/g, aproximadamente 10 mg/g, aproximadamente 11 mg/g, aproximadamente 12 mg/g, aproximadamente 13 mg/g, aproximadamente 13,5 mg/g, aproximadamente 14 mg/g, aproximadamente 15 mg/g, aproximadamente 16 mg/g, aproximadamente 17 mg/g, aproximadamente 18 mg/g, aproximadamente 19 mg/g, aproximadamente 20 mg/g, aproximadamente 40 mg/g, o aproximadamente 60 mg/g. En otros aspectos de esta realización, una composición comprende un glicosaminoglicano no reticulado en la que el glicosaminoglicano no reticulado está presente a una concentración de, por ejemplo, al menos 1 mg/g, al menos 2 mg/g, al menos 3 mg/g, al menos 4 mg/g, al menos 5 mg/g, al menos 10 mg/g, al menos 15 mg/g, al menos 20 mg/g, al menos 25 mg/g al menos 35 mg/g, o al menos 40 mg/g. En aún otros aspectos de esta realización, una composición comprende un glicosaminoglicano no reticulado en la que el glicosaminoglicano no reticulado está presente a una concentración de, por ejemplo, como máximo 1 mg/g, como máximo 2 mg/g, como máximo 3 mg/g, como máximo 4 mg/g, como máximo 5 mg/g, como máximo 10 mg/g, como máximo 15 mg/g, como máximo 20 mg/g, o como máximo 25 mg/g. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición comprende un glicosaminoglicano no reticulado en la que el glicosaminoglicano no reticulado está presente a una concentración de, por ejemplo, de aproximadamente 1 mg/g a aproximadamente 60 mg/g, de aproximadamente 10 mg/g a aproximadamente 40 mg/g, de aproximadamente 7,5 mg/g a aproximadamente 19,5 mg/g, de aproximadamente 8,5 mg/g a aproximadamente 18,5 mg/g, de aproximadamente 9,5 mg/g a aproximadamente 17,5 mg/g, de aproximadamente 10,5 mg/g a aproximadamente 16,5 mg/g, de aproximadamente 11,5 mg/g a aproximadamente 15,5 mg/g, o de aproximadamente 12,5 mg/g a aproximadamente 14,5 mg/g.

25 En una realización, una composición comprende polímeros de hialuronano no reticulados de bajo peso molecular. En aspectos de esta realización, una composición comprende un hialuronano no reticulado que tiene un peso molecular medio de, por ejemplo, aproximadamente 100.000 Da, aproximadamente 200.000 Da, aproximadamente 300.000 Da, aproximadamente 400.000 Da, aproximadamente 500.000 Da, aproximadamente 600.000 Da, aproximadamente 700.000 Da, aproximadamente 800.000 Da, o aproximadamente 900.000 Da. En aún otros aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano no reticulados que tienen un peso molecular medio de, por ejemplo, como máximo 100.000 Da, como máximo 200.000 Da, como máximo 300.000 Da, como máximo 400.000 Da, como máximo 500.000 Da, como máximo 600.000 Da, como máximo 700.000 Da, como máximo 800.000 Da, como máximo 900.000 Da, o como máximo 950.000. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano no reticulados que tienen un peso molecular medio de, por ejemplo, de aproximadamente 100.000 Da a aproximadamente 500.000 Da, de aproximadamente 200.000 Da a aproximadamente 500.000 Da, de aproximadamente 300.000 Da a aproximadamente 500.000 Da, de aproximadamente 400.000 Da a aproximadamente 500.000 Da, de aproximadamente 500.000 Da a aproximadamente 950.000 Da, de aproximadamente 600.000 Da a aproximadamente 950.000 Da, de aproximadamente 700.000 Da a aproximadamente 950.000 Da, de aproximadamente 800.000 Da a aproximadamente 950.000 Da, de aproximadamente 300.000 Da a aproximadamente 600.000 Da, de aproximadamente 300.000 Da a aproximadamente 700.000 Da, de aproximadamente 300.000 Da a aproximadamente 800.000 Da, o de aproximadamente 400.000 Da a aproximadamente 700.000 Da.

45 En otra realización, una composición comprende polímeros de hialuronano no reticulados de alto peso molecular. En aspectos de esta realización, una composición comprende un hialuronano no reticulado que tiene un peso molecular medio de, por ejemplo, aproximadamente 1.000.000 Da, aproximadamente 1.500.000 Da, aproximadamente 2.000.000 Da, aproximadamente 2.500.000 Da, aproximadamente 3.000.000 Da, aproximadamente 3.500.000 Da, aproximadamente 4.000.000 Da, aproximadamente 4.500.000 Da, o aproximadamente 5.000.000 Da. En otros aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano no reticulados que tienen un peso molecular medio de, por ejemplo, al menos 1.000.000 Da, al menos 1.500.000 Da, al menos 2.000.000 Da, al menos 2.500.000 Da, al menos 3.000.000 Da, al menos 3.500.000 Da, al menos 4.000.000 Da, al menos 4.500.000 Da, o al menos 5.000.000 Da. En aún otros aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano no reticulados que tienen un peso molecular medio de, por ejemplo, de aproximadamente 1.000.000 Da a aproximadamente 5.000.000 Da, de aproximadamente 1.500.000 Da a aproximadamente 5.000.000 Da, de aproximadamente 2.000.000 Da a aproximadamente 5.000.000 Da, de aproximadamente 2.500.000 Da a aproximadamente 5.000.000 Da, de aproximadamente 2.000.000 Da a aproximadamente 3.000.000 Da, de aproximadamente 2.500.000 Da a aproximadamente 3.500.000 Da, o de aproximadamente 2.000.000 Da a aproximadamente 4.000.000 Da. En todavía otros aspectos, una composición comprende polímeros de hialuronano no reticulados que tienen un peso molecular medio de, por ejemplo, más de 2.000.000 Da y menos de aproximadamente 3.000.000 Da, más de 2.000.000 Da y menos de aproximadamente 3.500.000 Da, más de 2.000.000 Da y menos de aproximadamente 4.000.000 Da, más de 2.000.000 Da y menos de aproximadamente 4.500.000 Da, más de 2.000.000 Da y menos de aproximadamente 5.000.000 Da.

65 En otra realización, una composición comprende polímeros de hialuronano no reticulados en la que el hialuronano no reticulado comprende una combinación tanto de polímeros de hialuronano de alto peso molecular como de polímeros de hialuronano de bajo peso molecular, en diversas razones. En aspectos de esta realización, una composición comprende polímeros de hialuronano no reticulados en la que los polímeros de hialuronano no reticulados comprenden una combinación tanto de polímeros de hialuronano de alto peso molecular como de

polímeros de hialuronano de bajo peso molecular en una razón de aproximadamente 20:1, aproximadamente 15:1, aproximadamente 10:1, aproximadamente 5:1, aproximadamente 1:1, aproximadamente 1:5, aproximadamente 1:10, aproximadamente 1:15, o aproximadamente 1:20.

5 Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel que comprende un polímero de glicosaminoglicano sustancialmente no reticulado. Tal como se usa en el presente documento, el término “sustancialmente no reticulado” se refiere a la presencia de polímeros de glicosaminoglicano no reticulados en una composición divulgada en el presente documento a un nivel de al menos el 90% en peso de la composición, estando el como máximo el 10% en peso de la composición restante compuesto de otros componentes incluyendo
10 polímeros de glicosaminoglicano reticulados. En aspectos de la misma, una composición comprende un polímero de sulfato de condroitina sustancialmente no reticulado, un polímero de sulfato de dermatano sustancialmente no reticulado, un polímero de sulfato de queratano sustancialmente no reticulado, un polímero de heparano sustancialmente no reticulado, un polímero de sulfato de heparano sustancialmente no reticulado, o un polímero de hialuronano sustancialmente no reticulado. En otros aspectos de esta realización, una composición comprende un glicosaminoglicano no reticulado en la que el glicosaminoglicano no reticulado representa, por ejemplo, aproximadamente el 90% o más en peso, aproximadamente el 91% o más en peso, aproximadamente el 92% o más en peso, aproximadamente el 93% o más en peso, aproximadamente el 94% o más en peso, aproximadamente el 95% o más en peso, aproximadamente el 96% o más en peso, aproximadamente el 97% o más en peso, aproximadamente el 98% o más en peso, o aproximadamente el 99% o más, o aproximadamente el 100% en peso, del glicosaminoglicano total presente en la composición. En aún otros aspectos de esta realización, una composición
15 comprende un glicosaminoglicano no reticulado en la que el glicosaminoglicano no reticulado representa, por ejemplo, de aproximadamente el 90% a aproximadamente el 100% en peso, de aproximadamente el 93% a aproximadamente el 100% en peso, de aproximadamente el 95% a aproximadamente el 100% en peso, o de aproximadamente el 97% a aproximadamente el 100% en peso, del glicosaminoglicano total presente en la
20 composición.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel que está esencialmente libre de un polímero de glicosaminoglicano reticulado. Tal como se usa en el presente documento, el término “esencialmente libre” (o “que consiste esencialmente en”) se refiere a una composición en la que sólo
30 pueden detectarse cantidades traza de polímeros de la matriz reticulados. En un aspecto de esta realización, una composición comprende un sulfato de condroitina que está esencialmente libre de un polímero de sulfato de condroitina reticulado, un sulfato de dermatano esencialmente libre de un polímero de sulfato de dermatano reticulado, un sulfato de queratano esencialmente libre de un polímero de sulfato de queratano reticulado, un heparano esencialmente libre de un polímero de heparano reticulado, un sulfato de heparano esencialmente libre de un polímero de sulfato de heparano reticulado, o un sulfato de hialuronano esencialmente libre de un polímero de hialuronano reticulado.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel que está completamente libre de un polímero de glicosaminoglicano reticulado. Tal como se usa en el presente documento, el término “completamente libre” se refiere a una composición que, dentro del intervalo de detección del instrumento o procedimiento que va a usarse, no pueden detectarse polímeros de glicosaminoglicano reticulados o no puede confirmarse su presencia. En un aspecto de la misma, una composición comprende un sulfato de condroitina que está completamente libre de un polímero de sulfato de condroitina reticulado, un sulfato de dermatano completamente libre de un polímero de sulfato de dermatano reticulado, un sulfato de queratano completamente libre de un polímero de sulfato de queratano reticulado, un heparano completamente libre de un polímero de sulfato de heparano reticulado, un sulfato de heparano completamente libre de un polímero de sulfato de heparano reticulado, o un sulfato de hialuronano completamente libre de un polímero de hialuronano reticulado.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel que comprende una razón de polímero de glicosaminoglicano reticulado y polímero de glicosaminoglicano no reticulado. Esta razón de polímero de glicosaminoglicano reticulado y no reticulado también se conoce como razón gel:fluido. Cualquier razón gel:fluido es útil en la elaboración de las composiciones divulgadas en el presente documento con la condición de que tal razón produzca una composición divulgada en el presente documento que mejore un estado de la piel tal como se divulga en el presente documento. Los ejemplos no limitativos de razones gel:fluido en composiciones de la presente invención incluyen 100:0, 98:2, 90:10, 75:25, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 25:75, 10:90; 2:98 y 0:100.

En aspectos de esta realización, una composición comprende un polímero de glicosaminoglicano reticulado y un polímero de glicosaminoglicano no reticulado en la que la razón gel:fluido es de, por ejemplo, aproximadamente 0:100, aproximadamente 1:99, aproximadamente 2:98, aproximadamente 3:97, aproximadamente 4:96, aproximadamente 5:95, aproximadamente 6:94, aproximadamente 7:93, aproximadamente 8:92, aproximadamente 9:91, o aproximadamente 10:90. En otros aspectos de esta realización, una composición comprende un polímero de glicosaminoglicano reticulado y un polímero de glicosaminoglicano no reticulado en la que la razón gel:fluido es de, por ejemplo, como máximo 1:99, como máximo 2:98, como máximo 3:97, como máximo 4:96, como máximo 5:95, como máximo 6:94, como máximo 7:93, como máximo 8:92, como máximo 9:91, o como máximo 10:90. En aún otros aspectos de esta realización, una composición comprende un polímero de glicosaminoglicano reticulado y un polímero de glicosaminoglicano no reticulado en la que la razón gel:fluido es de, por ejemplo, de aproximadamente

0:100 a aproximadamente 3:97, de aproximadamente 0:100 a aproximadamente 5:95, o de aproximadamente 0:100 a aproximadamente 10:90.

En otros aspectos de esta realización, una composición comprende un polímero de glicosaminoglicano reticulado y un polímero de glicosaminoglicano no reticulado en la que la razón gel:fluido es de, por ejemplo, aproximadamente 15:85, aproximadamente 20:80, aproximadamente 25:75, aproximadamente 30:70, aproximadamente 35:65, aproximadamente 40:60, aproximadamente 45:55, aproximadamente 50:50, aproximadamente 55:45, aproximadamente 60:40, aproximadamente 65:35, aproximadamente 70:30, aproximadamente 75:25, aproximadamente 80:20, aproximadamente 85:15, aproximadamente 90:10, aproximadamente 95:5, aproximadamente 98:2, o aproximadamente 100:0. En aún otros aspectos de esta realización, una composición comprende un polímero de glicosaminoglicano reticulado y un polímero de glicosaminoglicano no reticulado en la que la razón gel:fluido es de, por ejemplo, como máximo 15:85, como máximo 20:80, como máximo 25:75, como máximo 30:70, como máximo 35:65, como máximo 40:60, como máximo 45:55, como máximo 50:50, como máximo 55:45, como máximo 60:40, como máximo 65:35, como máximo 70:30, como máximo 75:25, como máximo 80:20, como máximo 85:15, como máximo 90:10, como máximo 95:5, como máximo 98:2, o como máximo 100:0. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición comprende un polímero de glicosaminoglicano reticulado y un polímero de glicosaminoglicano no reticulado en la que la razón gel:fluido es de, por ejemplo, de aproximadamente 10:90 a aproximadamente 70:30, de aproximadamente 15:85 a aproximadamente 70:30, de aproximadamente 10:90 a aproximadamente 55:45, de aproximadamente 80:20 a aproximadamente 95:5, de aproximadamente 90:10 a aproximadamente 100:0, de aproximadamente 75:25 a aproximadamente 100:0, o de aproximadamente 60:40 a aproximadamente 100:0.

Una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede comprender además otro agente o combinación de agentes que proporcione un efecto beneficioso cuando se administre la composición a un individuo. Tales agentes beneficiosos incluyen, sin limitación, un antioxidante, un agente antiprurito, un agente anticelulítico, un agente anticicatrizante, un agente antiinflamatorio, un agente anestésico, un agente antiirritante, un vasoconstrictor, un vasodilatador, un agente antihemorrágico como un agente hemostático o agente antifibrinolítico, un agente de descamación, un agente tensionante, un agente antiacné, un agente de pigmentación, un agente antipigmentación, o un agente humectante.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que puede comprender opcionalmente un agente anestésico. Un agente anestésico es preferiblemente un agente anestésico local, es decir, un agente anestésico que provoca una anestesia local reversible y una pérdida de nocisensibilidad, tal como, por ejemplo, anestésicos locales de aminoamida y anestésicos locales de aminoéster. La cantidad de un agente anestésico incluido en una composición divulgada en el presente documento es una cantidad eficaz para mitigar el dolor experimentado por un individuo tras la administración de la composición. Como tal, la cantidad de un agente anestésico incluido en una composición divulgada en la presente memoria descriptiva es de entre aproximadamente el 0,1% y aproximadamente el 5% en peso de la composición total. Los ejemplos no limitativos de agentes anestésicos incluyen lidocaína, ambucaína, amolanona, amilocaína, benoxinato, benzocaína, betoxicaína, bifenammina, bupivacaína, butacaína, butambeno, butanilicaína, butetamina, butoxicaína, carticaína, cloroprocaína, cocaetileno, cocaína, ciclometicaína, dibucaína, dimetisoquina, dimetocaína, dipierodón, dicitlonina, ecgonidina, ecgonina, cloruro de etilo, etidocaína, beta-eucaína, euprocina, fenalcomina, formocaína, hexilcaína, hidroxitetraína, p-aminobenzoato de isobutilo, mesilato de leucinocaína, levoxadrol, lidocaína, mepivacaína, mepirilcaína, 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, tetraína, tolicaína, trimecaína, zolamina, combinaciones de los mismos, y sales de los mismos. Los ejemplos no limitativos de anestésicos locales de aminoéster incluyen procaína, cloroprocaína, cocaína, ciclometicaína, cimetocaína (larocaína), propoxicaína, procaína (novocaína), proparacaína, tetraína (ametocaína). Los ejemplos no limitativos de anestésicos locales de aminoamida incluyen articaína, bupivacaína, cinchocaína (dibucaína), etidocaína, levobupivacaína, lidocaína (lignocaína), mepivacaína, piperocaína, prilocaína, ropivacaína y trimecaína. Una composición divulgada en el presente documento puede comprender un único agente anestésico o una pluralidad de agentes anestésicos. Un ejemplo no limitativo de una combinación de anestésicos locales es lidocaína/prilocaína (EMLA).

Por tanto, en una realización, una composición divulgada en el presente documento comprende un agente anestésico y sales del mismo. En aspectos de esta realización, una composición divulgada en el presente documento comprende un anestésico local de aminoamida y sales del mismo o un anestésico local de aminoéster y sales del mismo. En otros aspectos de esta realización, una composición divulgada en el presente documento comprende procaína, cloroprocaína, cocaína, ciclometicaína, cimetocaína, propoxicaína, procaína, proparacaína, tetraína, o sales de los mismos, o cualquier combinación de los mismos. En aún otros aspectos de esta realización, una composición divulgada en el presente documento comprende articaína, bupivacaína, cinchocaína, etidocaína, levobupivacaína, lidocaína, mepivacaína, piperocaína, prilocaína, ropivacaína, trimecaína, o sales de los mismos, o cualquier combinación de los mismos. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición divulgada en el presente documento comprende una combinación de lidocaína/prilocaína.

En otros aspectos de esta realización, una composición divulgada en el presente documento comprende un agente anestésico en una cantidad de, por ejemplo, aproximadamente el 0,1%, aproximadamente el 0,2%, aproximadamente el 0,3%, aproximadamente el 0,4%, aproximadamente el 0,5%, aproximadamente el 0,6%, aproximadamente el 0,7%, aproximadamente el 0,8%, aproximadamente el 0,9%, aproximadamente el 1,0%, aproximadamente el 2,0%, aproximadamente el 3,0%, aproximadamente el 4,0%, aproximadamente el 5,0%, aproximadamente el 6,0%, aproximadamente el 7,0%, aproximadamente el 8,0%, aproximadamente el 9,0%, o aproximadamente el 10% en peso de la composición total. En aún otros aspectos, una composición divulgada en el presente documento comprende un agente anestésico en una cantidad de, por ejemplo, al menos el 0,1%, al menos el 0,2%, al menos el 0,3%, al menos el 0,4%, al menos el 0,5%, al menos el 0,6%, al menos el 0,7%, al menos el 0,8%, al menos el 0,9%, al menos el 1,0%, al menos el 2,0%, al menos el 3,0%, al menos el 4,0%, al menos el 5,0%, al menos el 6,0%, al menos el 7,0%, al menos el 8,0%, al menos el 9,0%, o al menos el 10% en peso de la composición total. En todavía otros aspectos, una composición divulgada en el presente documento comprende un agente anestésico en una cantidad de, por ejemplo, como máximo el 0,1%, como máximo el 0,2%, como máximo el 0,3%, como máximo el 0,4%, como máximo el 0,5%, como máximo el 0,6%, como máximo el 0,7%, como máximo el 0,8%, como máximo el 0,9%, como máximo el 1,0%, como máximo el 2,0%, como máximo el 3,0%, como máximo el 4,0%, como máximo el 5,0%, como máximo el 6,0%, como máximo el 7,0%, como máximo el 8,0%, como máximo el 9,0%, o como máximo el 10% en peso de la composición total. En aspectos adicionales, una composición divulgada en el presente documento comprende un agente anestésico en una cantidad de, por ejemplo, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 0,5%, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente 1,0%, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 2,0%, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 3,0%, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 4,0%, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 5,0%, de aproximadamente el 0,2% a aproximadamente el 0,9%, de aproximadamente el 0,2% a aproximadamente el 1,0%, de aproximadamente el 0,2% a aproximadamente el 2,0%, de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 1,0%, o de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 2,0% en peso de la composición total.

En otra realización, una composición divulgada en el presente documento no comprende un agente anestésico.

En un aspecto de la presente invención, se proporciona un material de relleno dérmico inyectable que comprende un polímero de ácido hialurónico, por ejemplo, un ácido hialurónico al menos una parte del cual se reticula, y un agente beneficioso conjugado de manera covalente con el polímero.

El agente beneficioso conjugado de manera covalente con el polímero se define en las reivindicaciones.

El agente beneficioso conjugado de manera covalente con el polímero es un derivado de vitamina C. La cantidad de vitamina C en la composición está en una cantidad eficaz para proporcionar al menos un beneficio terapéutico o cosmético deseado cuando se libera en el organismo, por ejemplo, pero no limitado a, neocolagénesis, antiinflamación, promoción de la viabilidad celular, antioxidación, angiogénesis, opacidad, y otros beneficios. La cantidad de vitamina C incluida en una composición divulgada en el presente documento está entre aproximadamente el 0,04% y aproximadamente el 5,0% en peso de la composición total, por ejemplo, entre aproximadamente el 0,1% y aproximadamente el 4,0% en peso de la composición total, por ejemplo, entre aproximadamente el 0,2% y aproximadamente el 2,0% en peso de la composición total. En una realización, la cantidad de vitamina C incluida en una composición divulgada en el presente documento está entre aproximadamente el 0,3% y aproximadamente el 1,2% en peso de la composición total.

Los derivados de vitamina C adecuados que se conjugan de manera covalente con el polímero en composiciones de la invención incluyen 2-fosfato de ácido L-ascórbico (AA-2P), 2-O-glucósido de ácido ascórbico (AA-2G), 3-aminopropilfosfato de ascorbilo (Vitagen), y combinaciones de los mismos. Una composición divulgada en el presente documento puede comprender un único agente de vitamina C o una pluralidad de agentes de vitamina C.

En otro aspecto de referencia, el agente beneficioso conjugado químicamente con el polímero es un retinoide. Los retinoides adecuados incluyen retinol (-grupo hidroxilo, -OH), tretinoína (ácido retinoico-grupo ácido carboxílico-COOH) y adapaleno (grupo carboxilo,-COOH).

En otro aspecto de referencia, el agente beneficioso conjugado químicamente con el polímero es una vitamina E, por ejemplo, (g-tocoferol, d-tocoferol).

En otro aspecto de referencia, el agente beneficioso conjugado químicamente con el polímero es un antioxidante, por ejemplo, ácido alfa-lipoico (ALA,-COOH), dimetilaminoetanol (DMAE, -OH), catalasa (-OH).

En otro aspecto de referencia, el agente beneficioso conjugado químicamente con el polímero es un factor de crecimiento (con grupos amina), por ejemplo, un factor de crecimiento epidérmico (EGF, con grupos amina), un factor de crecimiento transformante (TGF, con grupos amina).

En otro aspecto de referencia, el agente beneficioso conjugado químicamente con el polímero es un péptido (con grupos amina), por ejemplo, pentapéptidos de microcolágeno, queratina o elastina.

En otro aspecto de referencia, se proporciona un material de relleno dérmico inyectable que comprende un polímero de glicosaminoglicano, al menos una parte del cual se reticula, y un agente antioxidante en una cantidad eficaz para reducir o prevenir la degradación de una composición divulgada en el presente documento, tal como, por ejemplo, degradación enzimática y/o degradación química de la composición. Como tal, la cantidad de un agente antioxidante incluida en una composición divulgada en el presente documento está entre aproximadamente el 0,1% y aproximadamente el 10% en peso de la composición total. Los ejemplos no limitativos de agentes antioxidantes incluyen un poliol, un flavonoide, una fitoalexina, un agente de ácido ascórbico, un tocoferol, un tocotrienol, un ácido lipoico, una melatonina, un carotenoide, un análogo o derivado de los mismos, y cualquier combinación de los mismos. Una composición divulgada en el presente documento puede comprender un único agente antioxidante o una pluralidad de agentes antioxidantes, un retinol, una coenzima, idebenona, alopurinol, glutatión, selenito de sodio. Los ejemplos de vitamina C incluyen 2-glucósido de ácido ascórbico (AA2G™), fosfato de ascorbilo y sodio (AA2P) y 3-aminopropilfosfato de ascorbilo (Vitagen).

La vitamina C, o ácido ascórbico, puede estar presente en la composición en una cantidad de, por ejemplo, aproximadamente el 0,01%, aproximadamente el 0,1%, aproximadamente el 0,2%, aproximadamente el 0,3%, aproximadamente el 0,4%, aproximadamente el 0,5%, aproximadamente el 0,6%, aproximadamente el 0,7%, aproximadamente el 0,8%, aproximadamente el 0,9%, aproximadamente el 1,0%, aproximadamente el 2,0%, aproximadamente el 3,0%, aproximadamente el 4,0%, aproximadamente el 5,0%, aproximadamente el 6,0%, aproximadamente el 7,0%, aproximadamente el 8,0%, aproximadamente el 9,0%, o aproximadamente el 10% en peso de la composición total. En aún otros aspectos, una composición divulgada en el presente documento comprende un ácido ascórbico en una cantidad de, por ejemplo, al menos el 0,1%, al menos el 0,2%, al menos el 0,3%, al menos el 0,4%, al menos el 0,5%, al menos el 0,6%, al menos el 0,7%, al menos el 0,8%, al menos el 0,9%, al menos el 1,0%, al menos el 2,0%, al menos el 3,0%, al menos el 4,0%, al menos el 5,0%, al menos el 6,0%, al menos el 7,0%, al menos el 8,0%, al menos el 9,0%, o al menos el 10% en peso de la composición total. En todavía otros aspectos, una composición divulgada en el presente documento comprende un ácido ascórbico en una cantidad de, por ejemplo, como máximo el 0,1%, como máximo el 0,2%, como máximo el 0,3%, como máximo el 0,4%, como máximo el 0,5%, como máximo el 0,6%, como máximo el 0,7%, como máximo el 0,8%, como máximo el 0,9%, como máximo el 1,0%, como máximo el 2,0%, como máximo el 3,0%, como máximo el 4,0%, como máximo el 5,0%, como máximo el 6,0%, como máximo el 7,0%, como máximo el 8,0%, como máximo el 9,0%, o como máximo el 10% en peso de la composición total. En aspectos adicionales, una composición divulgada en el presente documento comprende un ácido ascórbico en una cantidad de, por ejemplo, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 0,5%, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 1,0%, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 2,0%, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 3,0%, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 4,0%, de aproximadamente el 0,1% a aproximadamente el 5,0%, de aproximadamente el 0,2% a aproximadamente el 0,9%, de aproximadamente el 0,2% a aproximadamente el 1,0%, de aproximadamente el 0,2% a aproximadamente el 2,0%, de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 1,0%, o de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 2,0% en peso de la composición total.

En un aspecto, se proporciona una composición de hidrogel que comprende un polímero a base de ácido hialurónico reticulado y una vitamina C conjugada químicamente con el polímero y que tiene un grado de conjugación de hasta aproximadamente el 3% en moles, hasta aproximadamente el 5% en moles, hasta aproximadamente el 10% en moles, hasta aproximadamente el 15% en moles, hasta aproximadamente el 20% en moles, hasta aproximadamente el 25% en moles, hasta aproximadamente el 30% en moles, o hasta aproximadamente el 40% en moles.

En un aspecto de referencia, se proporciona un material de relleno dérmico en el que el ácido hialurónico se reticula con epóxido de PEG en estrella o amida de PEG en estrella. En esta realización, el grado de conjugación puede estar entre aproximadamente el 20% en moles y aproximadamente el 32% en moles.

En otro aspecto de referencia, se proporciona un material de relleno dérmico en el que el ácido hialurónico se reticula con BDDE. En este aspecto, el grado de conjugación puede estar entre aproximadamente el 3% en moles y aproximadamente el 15% en moles, por ejemplo, entre aproximadamente el 10% en moles y aproximadamente el 13% en moles, por ejemplo, aproximadamente el 10% en moles.

En algunas realizaciones, los materiales de relleno dérmico tienen una biodisponibilidad sostenida. Por ejemplo, se proporcionan materiales de relleno dérmico que, cuando se introducen en la piel de un ser humano, son eficaces para liberar ácido ascórbico mediante enzimas unidas a una membrana celular, por ejemplo, α -glucosidasa que se une a un fibroblasto u otra vitamina en el ser humano durante al menos aproximadamente 1 mes y hasta aproximadamente 20 meses o más.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que muestra un módulo complejo, un módulo elástico, un módulo viscoso y/o una $\tan \delta$. Las composiciones tal como se divulga en el presente documento son viscoelásticas ya que la composición tiene un componente elástico (similar a un sólido tal como, por ejemplo, polímeros de glicosaminoglicano reticulados) y un componente viscoso (similar a un líquido tal como, por ejemplo, polímeros de glicosaminoglicano no reticulados o una fase portadora) cuando se aplica una fuerza (tensión, deformación). El atributo reológico que describe esta propiedad es el módulo complejo (G^*), que define la resistencia total de la composición frente a la deformación. El

módulo complejo es un número complejo con una parte real e imaginaria: $G^* = G' + iG''$. El valor absoluto de G^* es $Abs(G^*) = \sqrt{G'^2 + G''^2}$. El módulo complejo puede definirse como la suma del módulo elástico (G') y el módulo viscoso (G''). Falcone, *et al.*, Temporary Polysaccharide Dermal Fillers: A Model for Persistence Based on Physical Properties, *Dermatol Surg.* 35(8): 1238-1243 (2009); Tezel, citado anteriormente, 2008; Kablik, citado anteriormente, 2009; Beasley, citado anteriormente, 2009.

El módulo elástico, o módulo de elasticidad, se refiere a la capacidad de un material de hidrogel de resistir la deformación o, por el contrario, la tendencia de un objeto de deformarse de manera no permanente cuando se le aplica una fuerza. El módulo elástico caracteriza la firmeza de una composición y también se denomina módulo de almacenamiento porque describe el almacenamiento de energía del movimiento de la composición. El módulo elástico describe la interacción entre elasticidad y resistencia ($G' = \text{tensión/deformación}$) y, como tal, proporciona una medición cuantitativa de la dureza o blandura de la composición. El módulo elástico de un objeto se define como la pendiente de su curva tensión-deformación en la región de deformación elástica: $\lambda = \text{tensión/deformación}$, en la que λ es el módulo elástico en Pascal; la tensión es la fuerza que provoca la deformación dividida por el área a la que se le aplica la fuerza; y la deformación es la razón del cambio provocado por la tensión con respecto al estado original del objeto. No obstante, en función de la velocidad a la que se aplica la fuerza, una composición más rígida tendrá un módulo elástico mayor y se necesitará una fuerza mayor para deformar el material a una distancia dada, tal como, por ejemplo, una inyección. La especificación de cómo deben medirse las tensiones, incluyendo las direcciones, permite que se definan muchos tipos de módulos elásticos. Los tres módulos elásticos principales son módulo de tracción, módulo de cizalladura y módulo de compresibilidad.

El módulo viscoso también se denomina módulo de pérdida porque describe la energía que se pierde como disipación viscosa. La $\tan \delta$ es la razón del módulo viscoso y el módulo elástico, $\tan \delta = G''/G'$. Falcone, citado anteriormente, 2009. Para los valores de $\tan \delta$ divulgados en la presente memoria descriptiva, una $\tan \delta$ se obtiene a partir del módulo dinámico a una frecuencia de 1 Hz. Una $\tan \delta$ menor corresponde a una composición más rígida, más dura o más elástica.

En otra realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento muestra un módulo elástico. En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra un módulo elástico de, por ejemplo, aproximadamente 25 Pa, aproximadamente 50 Pa, aproximadamente 75 Pa, aproximadamente 100 Pa, aproximadamente 125 Pa, aproximadamente 150 Pa, aproximadamente 175 Pa, aproximadamente 200 Pa, aproximadamente 250 Pa, aproximadamente 300 Pa, aproximadamente 350 Pa, aproximadamente 400 Pa, aproximadamente 450 Pa, aproximadamente 500 Pa, aproximadamente 550 Pa, aproximadamente 600 Pa, aproximadamente 650 Pa, aproximadamente 700 Pa, aproximadamente 750 Pa, aproximadamente 800 Pa, aproximadamente 850 Pa, aproximadamente 900 Pa, aproximadamente 950 Pa, aproximadamente 1.000 Pa, aproximadamente 1.200 Pa, aproximadamente 1.300 Pa, aproximadamente 1.400 Pa, aproximadamente 1.500 Pa, aproximadamente 1.600 Pa, aproximadamente 1700 Pa, aproximadamente 1800 Pa, aproximadamente 1900 Pa, aproximadamente 2.000 Pa, aproximadamente 2.100 Pa, aproximadamente 2.200 Pa, aproximadamente 2.300 Pa, aproximadamente 2.400 Pa, o aproximadamente 2.500 Pa. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra un módulo elástico de, por ejemplo, al menos 25 Pa, al menos 50 Pa, al menos 75 Pa, al menos 100 Pa, al menos 125 Pa, al menos 150 Pa, al menos 175 Pa, al menos 200 Pa, al menos 250 Pa, al menos 300 Pa, al menos 350 Pa, al menos 400 Pa, al menos 450 Pa, al menos 500 Pa, al menos 550 Pa, al menos 600 Pa, al menos 650 Pa, al menos 700 Pa, al menos 750 Pa, al menos 800 Pa, al menos 850 Pa, al menos 900 Pa, al menos 950 Pa, al menos 1.000 Pa, al menos 1.200 Pa, al menos 1.300 Pa, al menos 1.400 Pa, al menos 1.500 Pa, al menos 1.600 Pa, al menos 1700 Pa, al menos 1800 Pa, al menos 1900 Pa, al menos 2.000 Pa, al menos 2.100 Pa, al menos 2.200 Pa, al menos 2.300 Pa, al menos 2.400 Pa, o al menos 2.500 Pa. En aún otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra un módulo elástico de, por ejemplo, como máximo 25 Pa, como máximo 50 Pa, como máximo 75 Pa, como máximo 100 Pa, como máximo 125 Pa, como máximo 150 Pa, como máximo 175 Pa, como máximo 200 Pa, como máximo 250 Pa, como máximo 300 Pa, como máximo 350 Pa, como máximo 400 Pa, como máximo 450 Pa, como máximo 500 Pa, como máximo 550 Pa, como máximo 600 Pa, como máximo 650 Pa, como máximo 700 Pa, como máximo 750 Pa, como máximo 800 Pa, como máximo 850 Pa, como máximo 900 Pa, como máximo 950 Pa, como máximo 1.000 Pa, como máximo 1.200 Pa, como máximo 1.300 Pa, como máximo 1.400 Pa, como máximo 1.500 Pa, o como máximo 1.600 Pa. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra un módulo elástico de, por ejemplo, de aproximadamente 25 Pa a aproximadamente 150 Pa, de aproximadamente 25 Pa a aproximadamente 300 Pa, de aproximadamente 25 Pa a aproximadamente 500 Pa, de aproximadamente 25 Pa a aproximadamente 800 Pa, de aproximadamente 125 Pa a aproximadamente 300 Pa, de aproximadamente 125 Pa a aproximadamente 500 Pa, de aproximadamente 125 Pa a aproximadamente 800 Pa, de aproximadamente 500 Pa a aproximadamente 1.600 Pa, de aproximadamente 600 Pa a aproximadamente 1.600 Pa, de aproximadamente 700 Pa a aproximadamente 1.600 Pa, de aproximadamente 800 Pa a aproximadamente 1.600 Pa, de aproximadamente 900 Pa a aproximadamente 1.600 Pa, de aproximadamente 1.000 Pa a aproximadamente 1.600 Pa, de aproximadamente 1.100 Pa a aproximadamente 1.600 Pa, de aproximadamente 1.200 Pa a aproximadamente 1.600 Pa, de aproximadamente 500 Pa a aproximadamente 2.500 Pa, de aproximadamente 1.000 Pa a aproximadamente 2.500 Pa, de aproximadamente 1.500 Pa a aproximadamente 2.500 Pa, de aproximadamente 2.000 Pa a aproximadamente 2.500 Pa, de aproximadamente 1.300 Pa a aproximadamente 1.600 Pa, de aproximadamente 1.400 Pa a aproximadamente

1.700 Pa, de aproximadamente 1.500 Pa a aproximadamente 1.800 Pa, de aproximadamente 1.600 Pa a aproximadamente 1.900 Pa, de aproximadamente 1.700 Pa a aproximadamente 2.000 Pa, de aproximadamente 1.800 Pa a aproximadamente 2.100 Pa, de aproximadamente 1.900 Pa a aproximadamente 2.200 Pa, de aproximadamente 2.000 Pa a aproximadamente 2.300 Pa, de aproximadamente 2.100 Pa a aproximadamente 2.400 Pa, o de aproximadamente 2.200 Pa a aproximadamente 2.500 Pa.

En otra realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento muestra un módulo viscoso. En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra un módulo viscoso de, por ejemplo, aproximadamente 10 Pa, aproximadamente 20 Pa, aproximadamente 30 Pa, aproximadamente 40 Pa, aproximadamente 50 Pa, aproximadamente 60 Pa, aproximadamente 70 Pa, aproximadamente 80 Pa, aproximadamente 90 Pa, aproximadamente 100 Pa, aproximadamente 150 Pa, aproximadamente 200 Pa, aproximadamente 250 Pa, aproximadamente 300 Pa, aproximadamente 350 Pa, aproximadamente 400 Pa, aproximadamente 450 Pa, aproximadamente 500 Pa, aproximadamente 550 Pa, aproximadamente 600 Pa, aproximadamente 650 Pa, o aproximadamente 700 Pa. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra un módulo viscoso de, por ejemplo, como máximo 10 Pa, como máximo 20 Pa, como máximo 30 Pa, como máximo 40 Pa, como máximo 50 Pa, como máximo 60 Pa, como máximo 70 Pa, como máximo 80 Pa, como máximo 90 Pa, como máximo 100 Pa, como máximo 150 Pa, como máximo 200 Pa, como máximo 250 Pa, como máximo 300 Pa, como máximo 350 Pa, como máximo 400 Pa, como máximo 450 Pa, como máximo 500 Pa, como máximo 550 Pa, como máximo 600 Pa, como máximo 650 Pa, o como máximo 700 Pa. En aún otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra un módulo viscoso de, por ejemplo, de aproximadamente 10 Pa a aproximadamente 30 Pa, de aproximadamente 10 Pa a aproximadamente 50 Pa, de aproximadamente 10 Pa a aproximadamente 100 Pa, de aproximadamente 10 Pa a aproximadamente 150 Pa, de aproximadamente 70 Pa a aproximadamente 100 Pa, de aproximadamente 50 Pa a aproximadamente 350 Pa, de aproximadamente 150 Pa a aproximadamente 450 Pa, de aproximadamente 250 Pa a aproximadamente 550 Pa, de aproximadamente 350 Pa a aproximadamente 700 Pa, de aproximadamente 50 Pa a aproximadamente 150 Pa, de aproximadamente 100 Pa a aproximadamente 200 Pa, de aproximadamente 150 Pa a aproximadamente 250 Pa, de aproximadamente 200 Pa a aproximadamente 300 Pa, de aproximadamente 250 Pa a aproximadamente 350 Pa, de aproximadamente 300 Pa a aproximadamente 400 Pa, de aproximadamente 350 Pa a aproximadamente 450 Pa, de aproximadamente 400 Pa a aproximadamente 500 Pa, de aproximadamente 450 Pa a aproximadamente 550 Pa, de aproximadamente 500 Pa a aproximadamente 600 Pa, de aproximadamente 550 Pa a aproximadamente 650 Pa, o de aproximadamente 600 Pa a aproximadamente 700 Pa.

En otra realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento muestra una $\tan \delta$. En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra una $\tan \delta$ de, por ejemplo, aproximadamente 0,1, aproximadamente 0,2, aproximadamente 0,3, aproximadamente 0,4, aproximadamente 0,5, aproximadamente 0,6, aproximadamente 0,7, aproximadamente 0,8, aproximadamente 0,9, aproximadamente 1,0, aproximadamente 1,1, aproximadamente 1,2, aproximadamente 1,3, aproximadamente 1,4, aproximadamente 1,5, aproximadamente 1,6, aproximadamente 1,7, aproximadamente 1,8, aproximadamente 1,9, aproximadamente 2,0, aproximadamente 2,1, aproximadamente 2,2, aproximadamente 2,3, aproximadamente 2,4, o aproximadamente 2,5. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra una $\tan \delta$ de, por ejemplo, como máximo 0,1, como máximo 0,2, como máximo 0,3, como máximo 0,4, como máximo 0,5, como máximo 0,6, como máximo 0,7, como máximo 0,8, como máximo 0,9, como máximo 1,0, como máximo 1,1, como máximo 1,2, como máximo 1,3, como máximo 1,4, como máximo 1,5, como máximo 1,6, como máximo 1,7, como máximo 1,8, como máximo 1,9, como máximo 2,0, como máximo 2,1, como máximo 2,2, como máximo 2,3, como máximo 2,4, o como máximo 2,5. En aún otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra una $\tan \delta$ de, por ejemplo, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3, de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,5, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 0,8, de aproximadamente 1,1 a aproximadamente 1,4, de aproximadamente 1,4 a aproximadamente 1,7, de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,6, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,5, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 0,9, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,6, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1,0, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,5, de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 2,0, o de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 2,5.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que tiene una transparencia y/o translucencia. La transparencia (también denominada diafanidad) es la propiedad física de permitir que la luz pase a través de un material, mientras que la translucencia (también denominada translucidez) sólo permite que la luz pase a su través de manera difusa. La propiedad opuesta es la opacidad. Los materiales transparentes son claros, mientras que los translúcidos no puede verse de manera clara a su través. Los hidrogeles de fibroína de seda divulgados en el presente documento pueden o no mostrar propiedades ópticas tales como transparencia y translucencia. En determinados casos, por ejemplo, el relleno de arrugas superficiales, sería una ventaja tener un hidrogel opaco. En otros casos tales como el desarrollo de una lente o un "humor" para rellenar el ojo, sería una ventaja tener un hidrogel translúcido. Estas propiedades pueden modificarse afectando a la distribución estructural del material de hidrogel. Los factores usados para controlar las propiedades ópticas de un hidrogel incluyen, sin limitación, concentración del polímero, cristalinidad del gel y homogeneidad del hidrogel.

Cuando la luz se encuentra un material, puede interaccionar con él de varios modos diferentes. Estas interacciones dependen de la naturaleza de la luz (su longitud de onda, frecuencia, energía, etc.) y la naturaleza del material. Las ondas de luz interaccionan con un objeto mediante alguna combinación de reflexión, y transmitancia con refracción. Como tal, un material ópticamente transparente permite que se transmita mucha de la luz que incide sobre él, reflejándose muy poca luz. Los materiales que no permiten la transmisión de luz se denominan ópticamente opacos o simplemente opacos.

En una realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento es ópticamente transparente. En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel transmite, por ejemplo, aproximadamente el 75% de la luz, aproximadamente el 80% de la luz, aproximadamente el 85% de la luz, aproximadamente el 90% de la luz, aproximadamente el 95% de la luz, o aproximadamente el 100% de la luz. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel transmite, por ejemplo, al menos el 75% de la luz, al menos el 80% de la luz, al menos el 85% de la luz, al menos el 90% de la luz, o al menos el 95% de la luz. En aún otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel transmite, por ejemplo, de aproximadamente el 75% a aproximadamente el 100% de la luz, de aproximadamente el 80% a aproximadamente el 100% de la luz, de aproximadamente el 85% a aproximadamente el 100% de la luz, de aproximadamente el 90% a aproximadamente el 100% de la luz, o de aproximadamente el 95% a aproximadamente el 100% de la luz.

En otra realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento es ópticamente opaca. En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel transmite, por ejemplo, aproximadamente el 5% de la luz, aproximadamente el 10% de la luz, aproximadamente el 15% de la luz, aproximadamente el 20% de la luz, aproximadamente el 25% de la luz, aproximadamente el 30% de la luz, aproximadamente el 35% de la luz, aproximadamente el 40% de la luz, aproximadamente el 45% de la luz, aproximadamente el 50% de la luz, aproximadamente el 55% de la luz, aproximadamente el 60% de la luz, aproximadamente el 65% de la luz, o aproximadamente el 70% de la luz. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel transmite, por ejemplo, como máximo el 5% de la luz, como máximo el 10% de la luz, como máximo el 15% de la luz, como máximo el 20% de la luz, como máximo el 25% de la luz, como máximo el 30% de la luz, como máximo el 35% de la luz, como máximo el 40% de la luz, como máximo el 45% de la luz, como máximo el 50% de la luz, como máximo el 55% de la luz, como máximo el 60% de la luz, como máximo el 65% de la luz, como máximo el 70% de la luz, o como máximo el 75% de la luz. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel transmite, por ejemplo, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 15%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 20%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 25%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 30%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 35%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 40%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 45%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 50%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 55%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 60%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 65%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 70%, de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 75%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 20%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 25%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 30%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 35%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 40%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 45%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 50%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 55%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 60%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 65%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 70%, de aproximadamente el 15% a aproximadamente el 75%, de aproximadamente el 25% a aproximadamente el 35%, de aproximadamente el 25% a aproximadamente el 40%, de aproximadamente el 25% a aproximadamente el 45%, de aproximadamente el 25% a aproximadamente el 50%, de aproximadamente el 25% a aproximadamente el 55%, de aproximadamente el 25% a aproximadamente el 60%, de aproximadamente el 25% a aproximadamente el 65%, de aproximadamente el 25% a aproximadamente el 70%, o de aproximadamente el 25% a aproximadamente el 75%, de la luz.

En una realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento es ópticamente translúcida. En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel trasmite de manera difusa, por ejemplo, aproximadamente el 75% de la luz, aproximadamente el 80% de la luz, aproximadamente el 85% de la luz, aproximadamente el 90% de la luz, aproximadamente el 95% de la luz, o aproximadamente el 100% de la luz. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel trasmite de manera difusa, por ejemplo, al menos el 75% de la luz, al menos el 80% de la luz, al menos el 85% de la luz, al menos el 90% de la luz, o al menos el 95% de la luz. En aún otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel trasmite de manera difusa, por ejemplo, de aproximadamente el 75% a aproximadamente el 100% de la luz, de aproximadamente el 80% a aproximadamente el 100% de la luz, de aproximadamente el 85% a aproximadamente el 100% de la luz, de aproximadamente el 90% a aproximadamente el 100% de la luz, o de aproximadamente el 95% a aproximadamente el 100% de la luz.

Una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede procesarse adicionalmente pulverizando el hidrogel para dar partículas y opcionalmente mezclarse con una fase portadora tal como, por ejemplo, agua o una solución salina para formar una sustancia inyectable o tópica como una disolución, un aceite, una loción, un gel, una pomada, una crema, una suspensión, un bálsamo o una pasta. Como tal, las composiciones de hidrogel divulgadas pueden ser composiciones monofásicas o multifásicas. Un hidrogel puede molerse hasta un tamaño de partícula de

desde aproximadamente 10 μm hasta aproximadamente 1000 μm de diámetro, tal como de aproximadamente 15 μm a aproximadamente 30 μm , de aproximadamente 50 μm a aproximadamente 75 μm , de aproximadamente 100 μm a aproximadamente 150 μm , de aproximadamente 200 μm a aproximadamente 300 μm , de aproximadamente 450 μm a aproximadamente 550 μm , de aproximadamente 600 μm a aproximadamente 700 μm , de aproximadamente 750 μm a aproximadamente 850 μm , o de aproximadamente 900 μm a aproximadamente 1.000 μm .

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición divulgada en el presente documento que es inyectable. Tal como se usa en el presente documento, el término "inyectable" se refiere a un individuo usando un dispositivo de inyección con una aguja fina. Tal como se usa en el presente documento, el término "aguja fina" se refiere a una aguja que es de calibre 27 o menor. La inyectabilidad de una composición divulgada en el presente documento puede lograrse dimensionando las partículas de hidrogel tal como conocen los expertos en la técnica.

En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento es inyectable a través de una aguja fina. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento es inyectable a través de una aguja de, por ejemplo, aproximadamente calibre 27, aproximadamente calibre 30, o aproximadamente calibre 32. En aún otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento es inyectable a través de una aguja de, por ejemplo, calibre 22 o menor, calibre 27 o menor, calibre 30 o menor, o calibre 32 o menor. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento es inyectable a través de una aguja de, por ejemplo, de aproximadamente calibre 22 a aproximadamente calibre 35, de calibre 22 a aproximadamente calibre 34, de calibre 22 a aproximadamente calibre 33, de calibre 22 a aproximadamente calibre 32, de aproximadamente calibre 22 a aproximadamente calibre 27, o de aproximadamente calibre 27 a aproximadamente calibre 32.

En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede inyectarse con una fuerza de extrusión de aproximadamente 60 N, aproximadamente 55 N, aproximadamente 50 N, aproximadamente 45 N, aproximadamente 40 N, aproximadamente 35 N, aproximadamente 30 N, aproximadamente 25 N, aproximadamente 20 N, o aproximadamente 15 N a velocidades de 100 mm/min. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede inyectarse a través de una aguja de calibre 27 con una fuerza de extrusión de aproximadamente 60 N o menos, aproximadamente 55 N o menos, aproximadamente 50 N o menos, aproximadamente 45 N o menos, aproximadamente 40 N o menos, aproximadamente 35 N o menos, aproximadamente 30 N o menos, aproximadamente 25 N o menos, aproximadamente 20 N o menos, aproximadamente 15 N o menos, aproximadamente 10 N o menos, o aproximadamente 5 N o menos. En aún otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede inyectarse a través de una aguja de calibre 30 con una fuerza de extrusión de aproximadamente 60 N o menos, aproximadamente 55 N o menos, aproximadamente 50 N o menos, aproximadamente 45 N o menos, aproximadamente 40 N o menos, aproximadamente 35 N o menos, aproximadamente 30 N o menos, aproximadamente 25 N o menos, aproximadamente 20 N o menos, aproximadamente 15 N o menos, aproximadamente 10 N o menos, o aproximadamente 5 N o menos. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede inyectarse a través de una aguja de calibre 32 con una fuerza de extrusión de aproximadamente 60 N o menos, aproximadamente 55 N o menos, aproximadamente 50 N o menos, aproximadamente 45 N o menos, aproximadamente 40 N o menos, aproximadamente 35 N o menos, aproximadamente 30 N o menos, aproximadamente 25 N o menos, aproximadamente 20 N o menos, aproximadamente 15 N o menos, o aproximadamente 5 N o menos.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que muestra cohesividad. La cohesividad, también denominada atracción cohesiva de cohesión, fuerza cohesiva o fuerza de compresión, es una propiedad física de un material, provocada por la atracción intermolecular entre moléculas similares dentro del material que actúa para unir las moléculas. La cohesividad se expresa en cuanto a gramos-fuerza (gmf). La cohesividad se ve afectada por, entre otros factores, la razón de peso molecular del polímero de glicosaminoglicano libre inicial, el grado de reticulación de los polímeros de glicosaminoglicano, la cantidad de polímeros de glicosaminoglicano libres residuales tras la reticulación y el pH de la composición de hidrogel. Una composición debe ser suficientemente cohesiva como para permanecer ubicada en un sitio de administración. De manera adicional, en determinadas aplicaciones, es importante una cohesividad suficiente para que una composición mantenga su forma, y por tanto funcionalidad, en el caso de un ciclo de carga mecánica. Como tal, en una realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento muestra cohesividad, a la par con el agua. En aún otra realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento muestra suficiente cohesividad para permanecer ubicada en un sitio de administración. En todavía otra realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento muestra suficiente cohesividad para mantener su forma. En una realización adicional, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento muestra suficiente cohesividad para mantener su forma y funcionalidad.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que muestra una osmolaridad fisiológicamente aceptable. Tal como se usa en el presente documento, el término “osmolaridad” se refiere a la concentración de solutos osmóticamente activos en disolución. Tal como se usa en el presente documento, el término “una osmolaridad fisiológicamente aceptable” se refiere a una osmolaridad según, o característica de, el funcionamiento normal de un organismo vivo. Como tal, la administración de una composición de hidrogel tal como se divulga en el presente documento muestra una osmolaridad que sustancialmente no tiene un efecto perjudicial a largo plazo o permanente cuando se administra a un mamífero. La osmolaridad se expresa en cuanto a osmoles de soluto osmóticamente activo por litro de disolvente (osmol/l o Osm/l). La osmolaridad es distinta de la molaridad porque mide los moles de partículas de soluto osmóticamente activo en lugar de moles de soluto. La distinción surge porque algunos compuestos pueden disociarse en disolución, mientras que otros no. La osmolaridad de una disolución puede calcularse a partir de la siguiente expresión: $\text{osmol/l} = \sum \varphi_i \eta_i C_i$, en la que φ es el coeficiente osmótico, que representa el grado de no idealidad de la disolución; η es el número de partículas (por ejemplo, iones) en los que se disocia una molécula; y C es la concentración molar del soluto; e i es el índice que representa la identidad de un soluto particular. La osmolaridad de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede medirse usando un método convencional que mide disoluciones.

En una realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento muestra una osmolaridad fisiológicamente aceptable. En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra una osmolaridad de, por ejemplo, aproximadamente 100 mOsm/l, aproximadamente 150 mOsm/l, aproximadamente 200 mOsm/l, aproximadamente 250 mOsm/l, aproximadamente 300 mOsm/l, aproximadamente 350 mOsm/l, aproximadamente 400 mOsm/l, aproximadamente 450 mOsm/l, o aproximadamente 500 mOsm/l. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra una osmolaridad de, por ejemplo, al menos 100 mOsm/l, al menos 150 mOsm/l, al menos 200 mOsm/l, al menos 250 mOsm/l, al menos 300 mOsm/l, al menos 350 mOsm/l, al menos 400 mOsm/l, al menos 450 mOsm/l, o al menos 500 mOsm/l. En aún otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra una osmolaridad de, por ejemplo, como máximo 100 mOsm/l, como máximo 150 mOsm/l, como máximo 200 mOsm/l, como máximo 250 mOsm/l, como máximo 300 mOsm/l, como máximo 350 mOsm/l, como máximo 400 mOsm/l, como máximo 450 mOsm/l, o como máximo 500 mOsm/l. En todavía otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel muestra una osmolaridad de, por ejemplo, de aproximadamente 100 mOsm/l a aproximadamente 500 mOsm/l, de aproximadamente 200 mOsm/l a aproximadamente 500 mOsm/l, de aproximadamente 200 mOsm/l a aproximadamente 400 mOsm/l, de aproximadamente 300 mOsm/l a aproximadamente 400 mOsm/l, de aproximadamente 270 mOsm/l a aproximadamente 390 mOsm/l, de aproximadamente 225 mOsm/l a aproximadamente 350 mOsm/l, de aproximadamente 250 mOsm/l a aproximadamente 325 mOsm/l, de aproximadamente 275 mOsm/l a aproximadamente 300 mOsm/l, o de aproximadamente 285 mOsm/l a aproximadamente 290 mOsm/l.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que muestra estabilidad sustancial. Tal como se usa en el presente documento, el término “estabilidad” o “estable” cuando se refiere a una composición de hidrogel divulgada en el presente documento se refiere a una composición que no es propensa a degradarse, deteriorarse o descomponerse en cualquier grado sustancial o significativo mientras se almacena antes de la administración a un individuo. Tal como se usa en el presente documento, el término “estabilidad térmica sustancial”, “sustancialmente estable al calor”, “estable a la esterilización en autoclave”, o “estable a la esterilización por vapor” se refiere a una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que es sustancialmente estable cuando se somete a un tratamiento térmico tal como se divulga en el presente documento.

La estabilidad de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede determinarse sometiendo una composición de hidrogel a un tratamiento térmico, tal como, por ejemplo, esterilización por vapor a presión normal o bajo presión (por ejemplo, esterilización en autoclave). Preferiblemente, el tratamiento térmico se lleva a cabo a una temperatura de al menos aproximadamente 100°C durante entre aproximadamente un minuto y aproximadamente 10 minutos. La estabilidad sustancial de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede evaluarse 1) determinando el cambio en la fuerza de extrusión (ΔF) de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento tras la esterilización, en la que un cambio en la fuerza de extrusión menor de 2 N es indicativo de una composición de hidrogel sustancialmente estable tal como se mide mediante (la fuerza de extrusión de una composición de hidrogel con los aditivos especificados) menos (la fuerza de extrusión de una composición de hidrogel sin los aditivos añadidos); y/o 2) determinando el cambio en las propiedades reológicas de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento tras la esterilización, en la que el cambio en la $\tan \delta$ 1 Hz de menos de 0,1 es indicativo de una composición de hidrogel sustancialmente estable tal como se mide mediante ($\tan \delta$ 1 Hz de la formulación de gel con aditivos) menos ($\tan \delta$ 1 Hz de la formulación de gel sin aditivos). Como tal, una composición de hidrogel sustancialmente estable divulgada en el presente documento retiene una o más de las siguientes características tras la esterilización: homogeneidad, fuerza de extrusión, cohesividad, concentración de hialuronano, concentración de agente(s), osmolaridad, pH u otras características reológicas deseadas para el hidrogel antes del tratamiento térmico.

En una realización, una composición de hidrogel que comprende un polímero de glicosaminoglicano y el al menos un agente divulgado en el presente documento se procesa usando un tratamiento térmico que mantiene las

propiedades del hidrogel deseadas divulgadas en el presente documento. En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel que comprende un polímero de glicosaminoglicano y el al menos un agente divulgado en el presente documento se procesa usando un tratamiento térmico de, por ejemplo, aproximadamente 100°C, aproximadamente 105°C, aproximadamente 110°C, aproximadamente 115°C, aproximadamente 120°C, aproximadamente 125°C, o aproximadamente 130°C. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel que comprende un polímero de glicosaminoglicano y el al menos un agente divulgado en el presente documento se procesa usando un tratamiento térmico de, por ejemplo, al menos 100°C, al menos 105°C, al menos 110°C, al menos 115°C, al menos 120°C, al menos 125°C, o al menos 130°C. En aún otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel que comprende un polímero de glicosaminoglicano y el al menos un agente divulgado en el presente documento se procesa usando un tratamiento térmico de, por ejemplo, de aproximadamente 100°C a aproximadamente 120°C, de aproximadamente 100°C a aproximadamente 125°C, de aproximadamente 100°C a aproximadamente 130°C, de aproximadamente 100°C a aproximadamente 135°C, de aproximadamente 110°C a aproximadamente 120°C, de aproximadamente 110°C a aproximadamente 125°C, de aproximadamente 110°C a aproximadamente 130°C, de aproximadamente 110°C a aproximadamente 135°C, de aproximadamente 120°C a aproximadamente 125°C, de aproximadamente 120°C a aproximadamente 130°C, de aproximadamente 120°C a aproximadamente 135°C, de aproximadamente 125°C a aproximadamente 130°C, o de aproximadamente 125°C a aproximadamente 135°C.

La estabilidad a largo plazo de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede determinarse sometiendo una composición de hidrogel a un tratamiento térmico, tal como, por ejemplo, almacenamiento en un entorno de aproximadamente 45°C durante aproximadamente 60 días. La estabilidad a largo plazo de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede evaluarse 1) evaluando la claridad y el color de una composición de hidrogel tras el tratamiento térmico a 45°C, siendo una composición de hidrogel transparente e incolora indicativa de una composición de hidrogel sustancialmente estable; 2) determinando el cambio en la fuerza de extrusión (ΔF) de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento tras el tratamiento térmico a 45°C, en la que un cambio en la fuerza de extrusión de menos de 2 N es indicativo de una composición de hidrogel sustancialmente estable tal como se mide mediante (la fuerza de extrusión de una composición de hidrogel con los aditivos especificados antes del tratamiento térmico a 45°C) menos (la fuerza de extrusión de la composición de hidrogel con los aditivos especificados tras el tratamiento térmico a 45°C); y/o 3) determinando el cambio en las propiedades reológicas de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento tras la esterilización, en la que el cambio en la $\tan \delta$ 1 Hz de menos de 0,1 es indicativo de una composición de hidrogel sustancialmente estable tal como se mide mediante ($\tan \delta$ 1 Hz de la formulación de gel con los aditivos especificados antes del tratamiento térmico a 45°C) menos ($\tan \delta$ 1 Hz de la formulación de gel con los aditivos especificados después del tratamiento térmico a 45°C). Como tal, una estabilidad a largo plazo de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento se evalúa mediante la retención de una o más de las siguientes características tras el tratamiento térmico a 45°C: claridad (transparencia y translucencia), homogeneidad y cohesividad.

En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel es sustancialmente estable a temperatura ambiente durante, por ejemplo, aproximadamente 3 meses, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 12 meses, aproximadamente 15 meses, aproximadamente 18 meses, aproximadamente 21 meses, aproximadamente 24 meses, aproximadamente 27 meses, aproximadamente 30 meses, aproximadamente 33 meses, o aproximadamente 36 meses. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel es sustancialmente estable a temperatura ambiente durante, por ejemplo, al menos 3 meses, al menos 6 meses, al menos 9 meses, al menos 12 meses, al menos 15 meses, al menos 18 meses, al menos 21 meses, al menos 24 meses, al menos 27 meses, al menos 30 meses, al menos 33 meses, o al menos 36 meses. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel es sustancialmente estable a temperatura ambiente durante, por ejemplo, de aproximadamente 3 meses a aproximadamente 12 meses, de aproximadamente 3 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 3 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 3 meses a aproximadamente 30 meses, de aproximadamente 3 meses a aproximadamente 36 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 12 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 30 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 36 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 12 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 30 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 36 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 30 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 36 meses, de aproximadamente 18 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 18 meses a aproximadamente 30 meses, o de aproximadamente 18 meses a aproximadamente 36 meses.

Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que es una composición farmacéuticamente aceptable. Tal como se usa en el presente documento, el término "farmacéuticamente aceptable" significa cualquier entidad molecular o composición que no produce una reacción adversa, alérgica u otra reacción perjudicial o no deseada cuando se administra a un individuo. Una composición de hidrogel farmacéuticamente aceptable es útil para aplicaciones médicas y

veterinarias. Una composición de hidrogel farmacéuticamente aceptable puede administrarse a un individuo sola, o en combinación con otros principios activos, agentes, fármacos u hormonas complementarios.

5 Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel tal como se divulga en el presente documento que comprende un excipiente farmacológicamente aceptable. Tal como se usa en el presente documento, el término “excipiente farmacológicamente aceptable” es sinónimo de “excipiente farmacológico” o “excipiente” y se refiere a cualquier excipiente que sustancialmente no tiene efecto perjudicial a largo plazo o permanente cuando se administra a un mamífero y abarca compuestos tales como, por ejemplo, un agente estabilizante, un agente de carga, un crioprotector, un lioprotector, un aditivo, un vehículo, un portador, un diluyente o un agente auxiliar. Un excipiente se mezcla generalmente con un principio activo, o se le permite diluir o encerrar al principio activo y puede ser un agente sólido, semisólido o líquido. También se prevé que una composición farmacéutica tal como se divulga en el presente documento puede incluir uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables que faciliten el procesamiento de un principio activo para dar composiciones farmacéuticamente aceptables. En la medida en que cualquier excipiente farmacológicamente aceptable sea incompatible con el principio activo, se contempla su uso en composiciones farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos no limitativos de excipientes farmacológicamente aceptables pueden encontrarse en, por ejemplo, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (Howard C. Ansel *et al.*, eds., Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 7^a ed. 1999); Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Alfonso R. Gennaro ed., Lippincott, Williams & Wilkins, 20^a ed. 2000); Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (Joel G. Hardman *et al.*, eds., McGraw-Hill Professional, 10^a ed. 2001); y Handbook of Pharmaceutical Excipients (Raymond C. Rowe *et al.*, APhA Publications, 4^a edición 2003).

25 Se prevé además que una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede incluir opcionalmente, sin limitación, otros componentes farmacéuticamente aceptables, incluyendo, sin limitación, tampones, conservantes, ajustadores de la tonicidad, sales, antioxidantes, agentes de ajuste de la osmolalidad, agentes emulsionantes, agentes humectantes, agentes edulcorantes o aromatizantes, y similares.

30 Un tampón farmacéuticamente aceptable es un tampón que puede usarse para preparar una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, siempre que la preparación resultante sea farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos no limitativos de tampones farmacéuticamente aceptable incluyen tampones de acetato, tampones de borato, tampones de citrato, soluciones salinas tamponadas neutras, tampones de fosfato y soluciones salinas tamponadas con fosfato. Cualquier concentración de un tampón farmacéuticamente aceptable puede ser útil en la formulación de una composición farmacéutica divulgada en el presente documento, con la condición de que se recupere una cantidad terapéuticamente eficaz del principio activo usando esta concentración de tampón eficaz. Los ejemplos no limitativos de concentraciones de tampones fisiológicamente aceptables se producen dentro del intervalo de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 900 mM. Puede ajustarse el pH de tampones farmacéuticamente aceptables, siempre que la preparación resultante sea farmacéuticamente aceptable. Se entiende que pueden usarse ácidos o bases para ajustar el pH de una composición farmacéutica según sea necesario. Cualquier nivel de pH tamponado puede ser útil en la formulación de una composición farmacéutica, con la condición de que se recupere una cantidad terapéuticamente eficaz del principio activo del polímero de la matriz usando este nivel de pH eficaz. Los ejemplos no limitativos de pH fisiológicamente aceptable se producen dentro del intervalo de aproximadamente pH 5,0 a aproximadamente pH 8,5. Por ejemplo, el pH de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede ser de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 8,0, o de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 7,5, de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,4, o de aproximadamente 7,1 a aproximadamente 7,3.

50 Los conservantes farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación, metabisulfito de sodio, tiosulfato de sodio, acetilcisteína, hidroxianisol butilado e hidroxitolueno butilado. Los conservantes farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación, cloruro de benzalconio, clorobutanol, timerosal, acetato fenilmercúrico, nitrato fenilmercúrico, una composición de oxígeno estabilizada, tal como, por ejemplo, PURITE® (Allergan, Inc. Irvine, CA) y quelantes, tales como, por ejemplo, DTPA o DTPA-bisamida, DTPA de calcio y CaNaDTPA-bisamida.

55 Los ajustadores de la tonicidad farmacéuticamente aceptables útiles en una composición de hidrogel divulgada en el presente documento incluyen, sin limitación, sales tales como, por ejemplo, cloruro de sodio y cloruro de potasio; y glicerina. La composición puede proporcionarse como una sal y puede formarse con muchos ácidos, incluyendo, pero sin limitarse a, clorhídrico, sulfúrico, acético, láctico, tartárico, málico, succínico, etc. Las sales tienden a ser más solubles en disolventes acuosos u otros disolventes protónicos que las formas de base libre correspondientes. Se entiende que estas y otras sustancias conocidas en la técnica de la farmacología pueden incluirse en una composición farmacéutica divulgada en el presente documento. Otros ejemplos no limitativos de componentes farmacológicamente aceptables pueden encontrarse en, por ejemplo, Ansel, citado anteriormente, (1999); Gennaro, citado anteriormente, (2000); Hardman, citado anteriormente, (2001); y Rowe, citado anteriormente, (2003), cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

65 Aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, un método de tratamiento de un estado de tejido blando de un individuo administrando una composición de hidrogel divulgada en el presente documento. Tal como se usa en el presente documento, el término “tratar”, se refiere a reducir o eliminar en un individuo un síntoma

cosmético o clínico de un estado de tejido blando caracterizado por una imperfección, un defecto, una enfermedad y/o un trastorno de tejido blando; o retrasar o prevenir en un individuo la aparición de un síntoma cosmético o clínico de un estado caracterizado por una imperfección, un defecto, una enfermedad y/o un trastorno de tejido blando. Por ejemplo, el término "tratar" puede significar reducir un síntoma de un estado caracterizado por un defecto, una enfermedad y/o un trastorno de tejido blando en, por ejemplo, al menos el 20%, al menos el 30%, al menos el 40%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90% o al menos el 100%. La eficacia de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento en el tratamiento de un estado caracterizado por un defecto, una enfermedad y/o un trastorno de tejido blando puede determinarse observando uno o más síntomas cosméticos, clínicos y/o indicadores fisiológicos asociados con el estado. Una mejora en un defecto, una enfermedad y/o un trastorno de tejido blando también puede indicarse por una necesidad reducida de una terapia simultánea. Los expertos en la técnica conocerán los síntomas apropiados o indicadores asociados con un defecto, una enfermedad y/o un trastorno de tejido blando específico y conocerán cómo determinar si un individuo es un candidato para el tratamiento con un compuesto o una composición divulgada en el presente documento.

Una composición de hidrogel se administra a un individuo. Un individuo es normalmente un ser humano de cualquier edad, género o raza. Normalmente, cualquier individuo que es un candidato para un procedimiento convencional para tratar un estado de tejido blando es un candidato para un método divulgado en el presente documento. Aunque un sujeto que experimenta los signos de envejecimiento de la piel es un adulto, los sujetos que experimentan envejecimiento prematuro u otros estados de la piel adecuados para el tratamiento (por ejemplo, una cicatriz) también pueden tratarse con una composición de hidrogel divulgada en el presente documento. Además, las composiciones de hidrogel y los métodos divulgados actualmente pueden aplicarse a individuos que buscan un aumento de tamaño pequeño/moderado, un cambio de forma o una alteración del contorno de una parte o región del cuerpo, que puede no ser técnicamente posible o estéticamente aceptable con la tecnología de implantes de tejido blando existente. La evaluación preoperatoria incluye normalmente los antecedentes y el examen físico de rutina además del consentimiento informado completo que divulga todos los riesgos y beneficios relevantes del procedimiento.

La composición de hidrogel y los métodos divulgados en el presente documento son útiles en el tratamiento de un estado de tejido blando. Un estado de tejido blando incluye, sin limitación, una imperfección, un defecto, una enfermedad y/o un trastorno de tejido blando. Los ejemplos no limitativos de un estado de tejido blando incluyen imperfección, defecto, enfermedad y/o trastorno de mama, tal como, por ejemplo, un aumento de mama, una reconstrucción de mama, mastopexia, micromastia, hipoplasia torácica, síndrome de Poland, defectos debidos a complicaciones del implante como contracción y/o ruptura capsular; una imperfección, un defecto, una enfermedad o un trastorno facial, tal como, por ejemplo, un aumento facial, una reconstrucción facial, una mesoterapia, síndrome de Parry-Romberg, lupus eritematoso profundo, depresiones dérmicas, cicatrices, mejillas hundidas, labios finos, imperfecciones o defectos nasales, imperfecciones o defectos retroorbitales, un pliegue, una línea y/o una arruga facial como una arruga glabellar, una arruga nasolabial, una arruga perioral y/o una arruga de expresión y/u otras deformidades o imperfecciones de contorno de la cara; una imperfección, un defecto, una enfermedad o un trastorno de cuello; una imperfección, un defecto, una enfermedad y/o un trastorno de cuello; otras imperfecciones, defectos, enfermedades y/o trastornos de tejido blando, tales como, por ejemplo, un aumento o una reconstrucción de la parte superior del brazo, la parte inferior del brazo, la mano, el hombro, la espalda, el tronco incluyendo abdomen, nalgas, parte superior de la pierna, parte inferior de la pierna incluyendo pantorrillas, pie incluyendo cuerpo adiposo de la planta, ojo, genitales u otra parte, región o área del cuerpo, o una enfermedad o un trastorno que afecta a estas partes, regiones o áreas del cuerpo; incontinencia urinaria, incontinencia fecal, otras formas de incontinencia; y enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE). Tal como se usa en el presente documento, el término "mesoterapia" se refiere a una técnica de tratamiento cosmético no quirúrgica de la piel que implica inyección intraepidérmica, intradérmica y/o subcutánea de un agente administrado como múltiples gotas pequeñas en la epidermis, la unión dermoepidérmica y/o la dermis.

La cantidad de una composición de hidrogel usada con cualquiera de los métodos tal como se divulga en el presente documento se determinará normalmente basándose en la alteración y/o mejora deseada, la reducción y/o eliminación deseada de un síntoma de estado de tejido blando, el efecto clínico y/o cosmético deseado por el individuo y/o médico, y la parte o región del cuerpo que va a tratarse. La eficacia de administración de la composición puede manifestarse por una o más de las siguientes mediciones clínicas y/o cosméticas: forma de tejido blando alterada y/o mejorada, tamaño de tejido blando alterado y/o mejorado, contorno de tejido blando alterado y/o mejorado, función de tejido alterada y/o mejorada, deposición de colágeno nuevo y/o soporte de penetración de tejido, injerto sostenido de composición, satisfacción y/o calidad de vida del paciente mejorada y uso disminuido de material extraño implantable.

Por ejemplo, para procedimientos de aumento de mama, la eficacia de las composiciones y los métodos puede manifestarse por una o más de las siguientes mediciones clínicas y/o cosméticas: tamaño de mama aumentado, forma de mama alterada, contorno de mama alterado, injerto sostenido, reducción en el riesgo de contracción capsular, tasa disminuida de formación de quistes liponecróticos, satisfacción y/o calidad de vida del paciente mejorada y uso disminuido de implantes de mama.

Como otro ejemplo, la eficacia de las composiciones y los métodos en el tratamiento de un tejido blando facial puede

manifestarse por una o más de las siguientes mediciones clínicas y/o cosméticas: tamaño, forma y/o contorno aumentado de una característica facial como tamaño, forma y/o contorno aumentado de región del labio, la mejilla o el ojo; tamaño, forma y/o contorno alterado de una característica facial como tamaño, forma y/o contorno alterado de forma de región del labio, la mejilla o el ojo; reducción o eliminación de una arruga, un pliegue o una línea en la piel; resistencia a una arruga, un pliegue o una línea en la piel; rehidratación de la piel; elasticidad aumentada de la piel; reducción o eliminación de aspereza de la piel; tersura de la piel aumentada y/o mejorada; reducción o eliminación de estrías o estrías gravídicas; tono, brillo, resplandor y/o luminosidad de la piel aumentados y/o mejorados; color de la piel aumentado y/o mejorado, reducción o eliminación de palidez de la piel; injerto sostenido de composición; efectos secundarios disminuidos; satisfacción y/o calidad de vida del paciente mejorada.

Como aún otro ejemplo, para procedimientos de incontinencia urinaria, la eficacia de las composiciones y los métodos para el soporte del esfínter puede manifestarse por una o más de las siguientes mediciones clínicas: frecuencia de incontinencia disminuida, injerto sostenido, satisfacción y/o calidad de vida del paciente mejorada y uso disminuido de material de relleno extraño implantable.

En aspectos de esta realización, la cantidad de una composición de hidrogel administrada es de, por ejemplo, aproximadamente 0,01 g, aproximadamente 0,05 g, aproximadamente 0,1 g, aproximadamente 0,5 g, aproximadamente 1 g, aproximadamente 5 g, aproximadamente 10 g, aproximadamente 20 g, aproximadamente 30 g, aproximadamente 40 g, aproximadamente 50 g, aproximadamente 60 g, aproximadamente 70 g, aproximadamente 80 g, aproximadamente 90 g, aproximadamente 100 g, aproximadamente 150 g o aproximadamente 200 g. En otros aspectos de esta realización, la cantidad de una composición de hidrogel administrada es de, por ejemplo, aproximadamente 0,01 g a aproximadamente 0,1 g, de aproximadamente 0,1 g a aproximadamente 1 g, de aproximadamente 1 g a aproximadamente 10 g, de aproximadamente 10 g a aproximadamente 100 g o de aproximadamente 50 g a aproximadamente 200 g. En aún otros aspectos de esta realización, la cantidad de una composición de hidrogel administrada es de, por ejemplo, aproximadamente 0,01 ml, aproximadamente 0,05 ml, aproximadamente 0,1 ml, aproximadamente 0,5 ml, aproximadamente 1 ml, aproximadamente 5 ml, aproximadamente 10 ml, aproximadamente 20 ml, aproximadamente 30 ml, aproximadamente 40 ml, aproximadamente 50 ml, aproximadamente 60 ml, aproximadamente 70 g, aproximadamente 80 ml, aproximadamente 90 ml, aproximadamente 100 ml, aproximadamente 150 ml o aproximadamente 200 ml. En otros aspectos de esta realización, la cantidad de una composición de hidrogel administrada es de, por ejemplo, aproximadamente 0,01 ml a aproximadamente 0,1 ml, de aproximadamente 0,1 ml a aproximadamente 1 ml, de aproximadamente 1 ml a aproximadamente 10 ml, de aproximadamente 10 ml a aproximadamente 100 ml o de aproximadamente 50 ml a aproximadamente 200 ml.

La duración del tratamiento se determinará normalmente basándose en el efecto cosmético y/o clínico deseado por el individuo y/o médico y la parte o región del cuerpo que se trata. En aspectos de esta realización, la administración de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede tratar un estado de tejido blando durante, por ejemplo, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 7 meses, aproximadamente 8 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 10 meses, aproximadamente 11 meses, aproximadamente 12 meses, aproximadamente 13 meses, aproximadamente 14 meses, aproximadamente 15 meses, aproximadamente 18 meses o aproximadamente 24 meses. En otros aspectos de esta realización, la administración de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede tratar un estado de tejido blando durante, por ejemplo, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 13 meses, al menos 14 meses, al menos 15 meses, al menos 18 meses o al menos 24 meses. En aún aspectos de esta realización, la administración de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede tratar un estado de tejido blando durante, por ejemplo, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 12 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 15 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 21 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 12 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 15 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 21 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 15 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 21 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 15 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 15 meses a aproximadamente 21 meses, de aproximadamente 15 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 18 meses a aproximadamente 21 meses, de aproximadamente 18 meses a aproximadamente 24 meses o de aproximadamente 21 meses a aproximadamente 24 meses.

Algunos aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, la administración de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento. Tal como se usa en el presente documento, el término "administrar" significa cualquier mecanismo de administración que proporciona una composición divulgada en el presente documento a un individuo que da como resultando potencialmente un resultado clínica, terapéutica o experimentalmente beneficioso. El mecanismo de administración real usado para administrar una composición a un individuo puede determinarse por un experto habitual en la técnica teniendo en cuenta factores, incluyendo, sin limitación, el tipo de estado de la piel, la ubicación del estado de la piel, la causa del estado de la piel, la gravedad

del estado de la piel, el grado de alivio deseado, la duración de alivio deseada, la composición particular usada, la tasa de excreción de la composición particular usada, la farmacodinámica de la composición particular usada, la naturaleza de los otros compuestos incluidos en la composición particular usada, la vía de administración particular, las características, los antecedentes y los factores de riesgo particulares del individuo, tal como, por ejemplo, edad, peso, salud general y similares, o cualquier combinación de los mismos. En un aspecto de esta realización, una composición divulgada en el presente documento se administra a una región de la piel de un individuo mediante inyección.

La vía de administración de una composición de hidrogel a un paciente individual se determinará normalmente basándose en el efecto cosmético y/o clínico deseado por el individuo y/o médico y la parte o región del cuerpo que se trata. Una composición divulgada en el presente documento puede administrarse mediante cualquier medio conocido por los expertos habituales en la técnica incluyendo, sin limitación, jeringa con aguja, una pistola (por ejemplo, una pistola de compresión hidroneumática), catéter, por vía tópica o mediante implantación quirúrgica directa. La composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede administrarse en una región de la piel tal como, por ejemplo, una región dérmica o una región hipodérmica. Por ejemplo, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede inyectarse utilizando agujas con un diámetro de aproximadamente 0,26 mm a aproximadamente 0,4 mm y una longitud que oscila desde aproximadamente 4 mm hasta aproximadamente 14 mm. Alternativamente, las agujas pueden ser de 21 a 32 G y tener una longitud de aproximadamente 4 mm a aproximadamente 70 mm. Preferiblemente, la aguja es una aguja de un solo uso. La aguja puede combinarse con una jeringa, un catéter y/o una pistola.

Además, una composición divulgada en el presente documento puede administrarse una vez, o a lo largo de una pluralidad de veces. Finalmente, el tiempo usado seguirá normas asistenciales de calidad. Por ejemplo, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede administrarse una vez o a lo largo de varias sesiones con las sesiones espaciadas entre sí por unos pocos días o semanas. Por ejemplo, a un individuo se le puede administrar una composición de hidrogel divulgada en el presente documento cada 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7 días o cada 1, 2, 3 ó 4 semanas. La administración de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento a un individuo puede ser mensual o bimensualmente, o administrarse cada 3, 6, 9 ó 12 meses.

Para un procedimiento de reemplazo de un tejido blando de mama, la vía de administración puede incluir las vías axilar, periareolar y/o inframamaria. Alternativamente o además, una composición puede administrarse a través de un enfoque subpectoral endoscópico transaxilar. Para un procedimiento de reemplazo de un tejido blando facial, la vía de administración puede ser las vías frontal, temporal, cigomática, periocular, mandibular, perioral o de mentón. En procedimientos de incontinencia urinaria, la vía de administración puede incluir las vías transuretral o periuretral. Alternativamente o además, la administración puede administrarse por medio de una vía anterógrada. Las vías comentadas en el presente documento no excluyen el uso de múltiples vías para lograr el efecto clínico deseado.

Algunos aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una región dérmica. Tal como se usa en el presente documento, el término "región dérmica" se refiere a la región de la piel que comprende la unión epidérmica-dérmica y la dermis incluyendo la dermis superficial (región papilar) y la dermis profunda (región reticular). La piel se compone de tres capas principales: la epidermis, que proporciona impermeabilidad y sirve como barrera frente a infección; la dermis, que sirve como ubicación para los apéndices de la piel; y la hipodermis (capa adiposa subcutánea). La epidermis no contiene vasos sanguíneos, y se alimenta por difusión desde la dermis. El principal tipo de células que conforman la epidermis son queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel.

La dermis es la capa de la piel debajo de la epidermis que consiste en tejido conjuntivo y amortigua el cuerpo de la tensión y la deformación. La dermis está conectada estrechamente con la epidermis mediante una membrana basal. También alberga muchas terminaciones nerviosas/mecanorreceptoras que proporcionan el sentido del tacto y el calor. Contiene los folículos pilosos, las glándulas sudoríparas, las glándulas sebáceas, las glándulas apocrinas, los vasos linfáticos y los vasos sanguíneos. Los vasos sanguíneos en la dermis proporcionan alimento y la eliminación de desechos de sus propias células así como del estrato basal de la epidermis. La dermis se divide estructuralmente en dos áreas: un área superficial adyacente a la epidermis, denominada región papilar, y un área más gruesa profunda conocida como la región reticular.

La región papilar se compone de tejido conjuntivo areolar holgado. Se denomina así por sus proyecciones en forma de dedos denominadas papilas que se extienden hacia la epidermis. Las papilas proporcionan a la dermis con una superficie "irregular" que se interdigita con la epidermis, fortaleciendo la conexión entre las dos capas de la piel. La región reticular se encuentra profunda en la región papilar y habitualmente es mucho más gruesa. Se compone de tejido conjuntivo irregular denso, y recibe su nombre de la densa concentración de fibras colágenas, elásticas y reticulares que se tejen a su través. Estas fibras proteicas le otorgan a la dermis sus propiedades de resistencia, extensibilidad y elasticidad. También se ubican dentro de la región reticular las raíces del cabello, las glándulas sebáceas, las glándulas sudoríparas, los receptores, las uñas y los vasos sanguíneos. La tinta de tatuajes se mantiene en la dermis. Las estrías gravídicas del embarazo también se ubican en la dermis.

La hipodermis se encuentra por debajo de la dermis. Su propósito es unir la región dérmica de la piel al hueso y

músculo subyacentes así como suministrarla con vasos sanguíneos y nervios. Consiste en tejido conjuntivo holgado y elastina. Los principales tipos de células son fibroblastos, macrófagos y adipocitos (la hipodermis contiene el 50% de la grasa corporal). La grasa sirve como relleno y aislamiento para el cuerpo.

5 En un aspecto de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento se administra a una región de la piel de un individuo mediante inyección en una región dérmica o una región hipodérmica. En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento se administra a una región dérmica de un individuo mediante inyección en, por ejemplo, una región de unión epidérmica-dérmica, una región papilar, una región reticular, o cualquier combinación de las mismas.

10 Otros aspectos de la presente memoria descriptiva divulgan, en parte, un método de tratamiento de un estado de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece un estado de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición mejora el estado de la piel, tratándose de ese modo el estado de la piel. En un aspecto de esta realización, un estado de la piel es un método de tratamiento de deshidratación de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece deshidratación de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición rehidrata la piel, tratándose de ese modo la deshidratación de la piel. En otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de una falta de elasticidad de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece una falta de elasticidad de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición aumenta la elasticidad de la piel, tratándose de ese modo una falta de elasticidad de la piel. En aún otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de la aspereza de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece aspereza de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición disminuye la aspereza de la piel, tratándose de ese modo la aspereza de la piel. En todavía otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de una falta de tersura de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece una falta de tersura de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición tersa la piel, tratándose de ese modo una falta de tersura de la piel.

30 En un aspecto adicional de esta realización, un método de tratamiento de una estría o estría gravídica comprende la etapa de administrar a un individuo que padece una estría o estría gravídica una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición reduce o elimina la estría o estría gravídica de la piel, tratándose de ese modo una estría o estría gravídica. En otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de la palidez de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece palidez de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición aumenta el tono o la luminosidad de la piel, tratándose de ese modo la palidez de la piel. En otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de arrugas de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece arrugas de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición reduce o elimina las arrugas de la piel, tratándose de ese modo las arrugas de la piel. En aún otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de arrugas de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición vuelve a la piel resistente a las arrugas de la piel, tratándose de ese modo las arrugas de la piel.

45 Los geles de vitamina C/HA conjugados según determinadas realizaciones de la invención han mostrado ventajas evidentes sobre la mezcla física de vitamina C con HA en cuanto a perfil de liberación. Los geles de HA conjugados son lo suficientemente estables en condiciones de liberación *in vitro* simples (sin enzimas implicadas). Se prevé que los geles de vitamina C conjugados muestren liberación sostenida con la ayuda de enzimas. En el caso de geles de AA2G conjugados a través de eterificación, la liberación de vitamina C activa se ve impulsada por α -glucosidasa y/o hialuronidasa. En cuanto a geles de Vitagen o AA2P conjugados por medio de amidación, la liberación de vitamina C activa se ve impulsada por fosfatasa. En el caso de geles de AA2G conjugados, la liberación de vitamina C activa se ve impulsada por hidrólisis y glucosidasa.

55 En algunas realizaciones, los materiales de relleno dérmico tienen una biodisponibilidad sostenida. Por ejemplo, se proporcionan materiales de relleno dérmico que, cuando se introducen en la piel de un ser humano (por ejemplo, por vía intradérmica o subdérmica en un ser humano para la corrección de defectos de tejido blando de huecos en la cara), liberan ácido ascórbico (u otra vitamina) en el ser humano durante al menos aproximadamente 1 mes y hasta aproximadamente 20 meses o más.

60 Por ejemplo, para predecir una eficacia sostenida de la vitamina C junto con la duración del material de relleno, se realiza una estimación del grado conjugado. Esta estimación se basó en la formulación de la conjugación de AA2G con HA por medio de eterificación. La formulación es estable en condiciones fisiológicas, pero comienza a liberar ácido ascórbico (AsA) por la α -glucosidasa que se une a la membrana celular. La liberación de AsA ocurre en la superficie de contacto del material de relleno/célula debido al hecho de que la α -glucosidasa se une a la membrana celular. La liberación adicional de AsA de HA-AA2G estará acompañada por la degradación de HA para hacer que AA2G esté disponible para los fibroblastos. Por tanto, la liberación de AsA depende del grado de conjugación de AA2G y la duración del HA. Un gel con un grado de conjugación de aproximadamente el 5% en moles podría liberar

vitamina C activa en un periodo de al menos hasta 1 mes, por ejemplo, entre 3-5 meses; un gel con un grado de conjugación del 10% podría liberar vitamina C activa en un periodo de hasta 6-8 meses; un gel con un grado de conjugación del 15% en moles podría liberar vitamina C activa en un periodo de hasta 10 meses; el 30% en moles hasta un año y medio.

5

Grado de conjugación (% en moles)	AsA total disponible*(mM)	Número calculado (meses)**
3	2,13	2,8
5	3,55	3,1
1	7,10	6,3
15	10,65	9,4
25	17,75	15,7
30	21,13	18,8

* Basado en los parámetros de los geles: volumen, 0,1 cm³; concentración, 24 mg/ml. $(0,1 \times 24 \times \text{el } 3\% \times 1000) / (338 \times 0,1) = 2,13 \text{ (mM)}$

10 ** Suposiciones:

AsA se libera a una tasa constante.

La concentración eficaz de AsA es de 0,05 mM y se mantiene eficaz $> 2 \text{ días } 2,13 \times 2 / (0,05 \times 30) = 2,8 \text{ (meses)}$

15

En una realización de la invención, se proporciona un material de relleno dérmico que comprende ácido hialurónico reticulado con un epóxido de PEG en estrella y que tiene un derivado de vitamina C (por ejemplo, uno de AA2G (2-glucósido de ácido ascórbico), Vitagen (3-aminopropilfosfato de L-ascorbilo) y SAP (fosfato de ascorbilo y sodio)) conjugado con el ácido hialurónico con un grado de conjugación de entre aproximadamente el 5% en moles y aproximadamente el 40% en moles.

20

Los métodos de elaboración de este material de relleno dérmico incluyen hacer reaccionar glicidial éter de pentaeritritol (epóxido de PEG en estrella) con 2-glucósido de ácido ascórbico (AA2G) a una razón, una temperatura de reacción y un tiempo de reacción adecuados para lograr una composición que contiene AA2G con los extremos ocupados por epóxidos de 4 brazos (epóxidos de AA2G de 4 brazos), epóxidos de 4 brazos sin reaccionar y AA2G libre. El epóxido de 4 brazos ocupado por AA2G (epóxidos de AA2G de 4 brazos) se conjuga con ácido hialurónico por medio del grupo epoxi. Los epóxidos de 4 brazos sin reaccionar sirven como agente de reticulación para reticular ácido hialurónico y como agente de conjugación para conjugar adicionalmente AA2G.

25

En otra realización de la invención, se proporciona un material de relleno dérmico que comprende ácido hialurónico reticulado con BDDE y que tiene un derivado de vitamina C (por ejemplo, uno de AA2G (2-glucósido de ácido ascórbico), Vitagen (3-aminopropilfosfato de L-ascorbilo) y SAP (fosfato de ascorbilo y sodio) conjugado con el ácido hialurónico con un grado de conjugación de entre aproximadamente el 3% en moles y aproximadamente el 15% en moles.

30

Los métodos de elaboración de este material de relleno dérmico incluyen hacer reaccionar BDDE con 2-glucósido de ácido ascórbico (AA2G) a una razón, una temperatura de reacción y un tiempo de reacción adecuados para lograr una composición que contiene AA2G con los extremos ocupados por BDDE (AA2G-BDDE), BDDE sin reaccionar y AA2G libre. El BDDE con los extremos ocupados por AA2G (AA2G-BDDE) se conjuga con ácido hialurónico por medio del grupo epoxi. El BDDE sin reaccionar sirve como agente de reticulación para reticular ácido hialurónico y como agente de conjugación para conjugar adicionalmente AA2G.

35

La figura 9 es una tabla que muestra el efecto de la concentración de α -glucosidasa sobre la liberación de AsA de la disolución de AA2G-PBS. La conversión de AA2G en AsA depende de la concentración de α -glucosidasa. AA2G se convierte en AsA casi por completo en 15 minutos cuando la concentración de α -glucosidasa es de 6,3 unidades/ml. Cuando la concentración de α -glucosidasa es de 4,7 unidades/ml, necesita 30 minutos para convertir por completo AA2G en AsA. El descenso adicional de la concentración de α -glucosidasa dio como resultado una conversión lenta de AA2G en AsA.

45

La figura 10 muestra una representación de un perfil de liberación de AsA libre de materiales de relleno dérmico conjugados según la invención (liberación sostenida) (conversión de AA2G en % en moles frente a tiempo de reacción). AA2G se convirtió por completo en AsA en la mezcla AA2G/Juvederm® en 40 minutos. Los conjugados de AA2H/HA mostraron una dependencia con el tiempo de la conversión de AA2G en AsA.

50

La figura 11A y 11B muestran datos de liberación adicionales para diversos materiales de relleno dérmico según la invención. Más específicamente, la conversión de AA2G en AsA en geles de HA-AA2G es dependiente de la concentración de α -glucosidasa. Una alta concentración de α -glucosidasa dio como resultado una rápida conversión

55

de AA2G en AsA. Para una concentración de α -glucosidasa dada, diferentes formulaciones mostraron diferentes perfiles de AA2G para dar AsA.

5 En realizaciones a modo de ejemplo de la invención, se proporciona una composición de gel de HA/AA2G conjugado que tiene las siguientes especificaciones:

La composición tiene un G' que está en un intervalo de 50-300 Pa, una concentración de HA en un intervalo de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 30 mg/ml, y un grado de conjugación de la vitamina C (por ejemplo, AA2G) en un intervalo de entre aproximadamente el 3 y aproximadamente el 15% en moles.

10 Por ejemplo, en una realización, la composición se elabora a partir de una mezcla de HA de bajo peso molecular/de alto peso molecular (90/10 p/p), tiene una concentración de HA de aproximadamente 15 mg/ml, un G' de aproximadamente 200 Pa y una conjugación de la vitamina C de aproximadamente el 10% en moles.

15 En otra realización, la composición se elabora a partir de una mezcla de HA de bajo peso molecular/de alto peso molecular (90/10 p/p), tiene una concentración de HA de aproximadamente 17,5 mg/ml, un G' de aproximadamente 240 Pa y una conjugación de la vitamina C de aproximadamente el 10% en moles.

20 En aún otra realización, la composición se elabora a partir de una mezcla de HA de bajo peso molecular/de alto peso molecular (90/10 p/p), tiene una concentración de HA de aproximadamente 24 mg/ml, un G' de aproximadamente 300 Pa y una conjugación de la vitamina C de aproximadamente el 10% en moles.

25 En un aspecto de la invención, se proporcionan métodos para tratar la piel que comprenden introducir una composición en la piel de un paciente, comprendiendo la composición ácido hialurónico y un derivado de vitamina C conjugado de manera covalente con el ácido hialurónico, en el que un grado de conjugación es de entre aproximadamente el 3% en moles y aproximadamente el 40% en moles, logrando de ese modo colagénesis mejorada en la piel. En determinadas realizaciones, el ácido hialurónico comprende un HA de bajo peso molecular, más específicamente, un HA de bajo peso molecular que tiene un peso molecular de entre aproximadamente 300 K Dalton y aproximadamente 500 K Dalton. Además, el ácido hialurónico comprende al menos el 80% p/p, por ejemplo, aproximadamente el 90% p/p de un HA de bajo peso molecular, por ejemplo, un HA de bajo peso molecular que tiene un peso molecular de entre aproximadamente 300 K Dalton y aproximadamente 500 K Dalton. Además, el ácido hialurónico puede comprender hasta o no más de aproximadamente el 20% p/p, o hasta o no más del 10% p/p, de un ácido hialurónico de alto peso molecular, más específicamente, un HA de alto peso molecular que tiene un peso molecular de entre aproximadamente 1,0 millón de Dalton (M Dalton) y aproximadamente 3,0 M Dalton. El ácido hialurónico de la composición es un ácido hialurónico reticulado tal como se describe en otra parte en el presente documento. En algunas realizaciones, la composición incluye una cantidad de ácido hialurónico no reticulado, por ejemplo, entre el 0,5% hasta el 5% p/p de HA no reticulado, por ejemplo, aproximadamente el 1% de HA no reticulado, por ejemplo, aproximadamente el 0,95% de HA no reticulado.

40 Para los propósitos de la presente divulgación, "grado de conjugación" tal como se usa en el presente documento se define como el porcentaje molar de conjugante, por ejemplo, AA2G, con respecto a la unidad de repetición de ácido hialurónico (por ejemplo, dímero de HA). Por tanto, un grado de conjugación del 10% en moles significa que cada 100 unidades de repetición de HA contienen 10 AA2G conjugados. El grado de conjugación puede calcularse usando el método ilustrado en el ejemplo 2 a continuación, u otros métodos conocidos por los expertos en la técnica.

45 Ejemplo 1

Conjugación de AA2G con geles de HA reticulado usando BDDE como agente de reticulación

50 Se hidrataron 400,6 mg de ácido hialurónico de bajo peso molecular (HA de bajo peso molecular) en 1802 mg de NaOH al 1% en peso en una jeringa durante aproximadamente 30 min. Se colocaron 800,7 mg de AA2G en un vial, seguido por 713,7 mg de BDDE y 1416,8 mg de NaOH al 10%. Se dejó reaccionar la disolución anterior (pH >12) en un baño de agua a 50°C durante aproximadamente 20 min, antes de la adición al HA hidratado. Después de la adición, se mezcló la mezcla aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó la pasta mezclada en un vial y en un baño de agua a aproximadamente 50°C durante aproximadamente 2,5 horas. Se añadieron 223,5 mg de HCl 12 M a 9,05 g de solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4. Después de aproximadamente 2,5 horas, se formó el gel de HA-AA2G. Se cortó el gel en trozos, y se le añadió disolución de HCl-PBS. Se dejó neutralizar el gel durante la noche en un agitador orbital. Se dimensionó el gel a través de un tamiz de ~60 μ m y se mezcló aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó el gel en una bolsa de diálisis RC con límite de PM de 15.000 y se dializó en PBS, tampón de pH 7,4. La diálisis continuó durante aproximadamente 185 horas, con cambios frecuentes de tampón de PBS. Después de la diálisis, se colocó el gel en una jeringa y se almacenó en una nevera a 4°C.

65 Ejemplo 2

Determinación de conjugaciones de AA2G

Se indicó el peso del gel tal como se describió en el ejemplo 1 justo antes de la diálisis y después de la diálisis. Se supuso que el gel era de aproximadamente 1 g/ml después de la diálisis. Se detuvo la diálisis en el punto en el que no aparecía AA2G notable por > 8 horas en 1 l de PBS. Se midió el AA2G a 260 nm usando un espectrofotómetro de UV/Vis (Nanodrop 2000C, ThermoScientific). La curva de calibración de AA2G se calculó usando diferentes concentraciones de AA2G en HA al 2% ($A_{@260\text{ nm}} = 1,4838 [AA2G(\text{mM})]$).

El peso de HA después de la diálisis: el peso inicial de HA x (peso real antes de la diálisis / peso teórico)

Los mmol de AA2G después de la diálisis: poner la absorción (@) a aproximadamente 260 nm después de la diálisis en la ecuación ($A_{@260\text{ nm}} = 1,4838 [AA2G(\text{mM})]$).

La conjugación @ de AA2G: (mmol de AA2G/mmol de HA)x100%.

El grado de conjugación de AA2G en el gel tal como se describió en el ejemplo 1 es del 14,7% en moles.

Ejemplo 3

Determinación de propiedades reológicas del gel:

Se usó un reómetro de placas paralelas oscilatorio (Anton Paar, Physica MCR 301) para medir las propiedades del gel obtenido en el ejemplo 1. El diámetro de placa usado fue de 25 mm. El hueco entre las placas se estableció en 1 mm. Para cada medición, se ejecutó en primer lugar un barrido de frecuencia a una deformación constante, antes del barrido de deformación a una frecuencia fijada. Se obtuvo el G' (módulo de almacenamiento) a partir de la curva de barrido de deformación a una deformación del 1%. El valor es de 1450 Pa para el gel.

Ejemplo 4

Conjugación de AA2G con geles de HA reticulado usando BDDE como agente de reticulación, con grado de conjugación y propiedades reológicas del gel ajustables.

El procedimiento fue similar al descrito en el ejemplo 1. El grado de conjugación se modifica ajustando las razones molares de agente de reticulación con respecto a HA y AA2G. Las propiedades del gel se midieron tal como se describió en el ejemplo 3. Los detalles son los siguientes:

Se hidrataron 400,8 mg de HA de bajo peso molecular en 1752,1 mg de NaOH al 1% en una jeringa durante aproximadamente 30 min. Se colocaron 800,3 mg de AA2G en un vial, seguido por 354,1 mg de BDDE y 1402,0 mg de NaOH al 10%. Se dejó reaccionar la disolución anterior ($\text{pH} > 12$) en un baño de agua a 50°C durante ~20 min, antes de la adición al HA hidratado. Después de la adición, se mezcló la mezcla ~20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó la pasta mezclada en un vial y en un baño de agua a aproximadamente 50°C durante ~2,5 horas. Se añadieron 140,9 mg de HCl 12 M a 9,0053 g de PBS, pH 7,4. Después de ~2,5 horas, se formó el gel de HA-AA2G. Se cortó el gel en trozos, y se le añadió disolución de HCl-PBS. Se dejó neutralizar e hinchar el gel durante la noche en un agitador orbital. Se dimensionó el gel a través de un tamiz de ~60 μm y se mezcló aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó el gel en una bolsa de diálisis RC con límite de PM de 15.000 y se dializó en PBS, tampón de pH 7,4. La diálisis continuó durante aproximadamente 164,5 horas, con cambios frecuentes de tampón de PBS. Después de la diálisis, se colocó el gel en una jeringa y se almacenó en una nevera a 4°C. El grado de conjugación es del 13%. El módulo de almacenamiento (G') del gel es de aproximadamente 803 Pa.

Ejemplo 5

Conjugación de AA2G con geles de HA reticulado usando BDDE como agente de reticulación, el grado de conjugación es de aproximadamente el 5,3%. G' es de aproximadamente 300 Pa.

Se hidrataron 400,3 mg de HA de bajo peso molecular en 3002,0 mg de NaOH al 1% en una jeringa durante aproximadamente 30 min. Se colocaron 800,5 mg de AA2G en un vial, seguido por 264,3 mg de BDDE y 1100,0 mg de NaOH al 10%. Se dejó reaccionar la disolución anterior ($\text{pH} >$ de aproximadamente 12) en un baño de agua a 50°C durante aproximadamente 20 min, antes de la adición al HA hidratado. Después de la adición, se mezcló la mezcla aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó la pasta mezclada en un vial y en un baño de agua a 50°C durante aproximadamente 2,5 horas. Se añadieron 104,2 mg de HCl 12 M a 8,5128 g de PBS, pH 7,4. Después de aproximadamente 2,5 horas, se formó el gel de HA-AA2G, y se le añadió disolución de HCl-PBS. Se dejó neutralizar e hinchar el gel a lo largo del fin de semana (aproximadamente 55 horas) en un agitador orbital. Se dimensionó el gel a través de un tamiz de ~60 μm y se mezcló aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó el gel en una bolsa de diálisis RC con límite de PM de 15.000 y se dializó en PBS, tampón de pH 7,4. La diálisis continuó durante aproximadamente 114 horas, con cambios

frecuentes de tampón de PBS. Después de la diálisis, se colocó el gel en una jeringa y se almacenó en una nevera a 4°C. El grado de conjugación y las propiedades reológicas del gel se miden en un procedimiento tal como se describió en los ejemplos 2 y 3. El grado de conjugación es del 5,3%. El módulo de almacenamiento del gel es de aproximadamente 300 Pa.

5

Ejemplo 6

Conjugación de AA2G a geles de HA reticulado usando epóxido de PEG en estrella como agente de reticulación, el grado de conjugación es de aproximadamente el 29,4%, G' es de aproximadamente 235 Pa.

10

Se hidrataron 200,4 mg de HA de bajo peso molecular en 2000 mg de NaOH al 1% en una jeringa durante ~30min. Se colocaron 400 mg de AA2G en un vial, seguido por 312,7 mg de epóxido de PEG en estrella y 1026,5 mg de NaOH al 10%. Se dejó reaccionar la disolución anterior en un baño de agua a 50°C agua durante ~20min, antes de la adición al HA hidratado. Después de la adición, se mezcló la mezcla ~20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó la pasta mezclada en un vial y en un baño de agua a 50°C durante ~2,5 horas. Se añadieron 187,4 mg de HCl 12 M a 3,034 g de PBS, pH 7,4. Después de ~2,5 horas, se formó el gel de HA-AA2G, y se le añadió disolución de HCl-PBS. Se dejó neutralizar e hinchar el gel a lo largo del fin de semana (~68 horas) en un agitador orbital. Se dimensionó el gel a través de un tamiz de ~60 µm y se mezcló ~20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó el gel en una bolsa de diálisis RC con límite de PM de 15.000 y se dializó en PBS, tampón de pH 7,4. La diálisis continuó durante ~95 horas, con cambios frecuentes de tampón de PBS. Después de la diálisis, se colocó el gel en una jeringa y se almacenó en una nevera a 4°C. El grado de conjugación y las propiedades reológicas del gel se miden en un procedimiento tal como se describió en los ejemplos 2 y 3. El grado de conjugación es de aproximadamente el 29,4%. El módulo de almacenamiento del gel es de aproximadamente 235 Pa.

25

Ejemplo 7

Conjugación de AA2G con geles de HA reticulado usando epóxido de PEG en estrella como agente de reticulación, el grado de conjugación es del 27,8%, G' es de aproximadamente 363 Pa.

30

Se hidrataron 200,3 mg de HA de bajo peso molecular en 2000 mg de NaOH al 1% en una jeringa durante ~30min. Se colocaron 400,2 mg de AA2G en un vial, seguido por 313,4 mg de epóxido de PEG en estrella y 1022,6 mg de NaOH al 10%. Se añadió la disolución anterior al HA hidratado. Después de la adición, se mezcló la mezcla aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó la pasta mezclada en un vial y en un baño de agua a 50°C durante aproximadamente 2,5 horas. Se añadieron 196,5 mg de HCl 12 M a 3,016 g de PBS, pH 7,4. Después de aproximadamente 2,5 horas, se formó el gel de HA-AA2G, y se le añadió disolución de HCl-PBS. Se dejó neutralizar e hinchar el gel durante la noche (aproximadamente 24 horas) en un agitador orbital. Se dimensionó el gel a través de un tamiz de ~60 µm y se mezcló aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó el gel en una bolsa de diálisis RC con límite de PM de 15.000 y se dializó en PBS, tampón de pH 7,4. La diálisis continuó durante ~98,5 horas, con cambios frecuentes de tampón de PBS. Después de la diálisis, se colocó el gel en una jeringa y se almacenó en una nevera a 4°C. El grado de conjugación y las propiedades reológicas del gel se miden en un procedimiento tal como se describió en los ejemplos 2 y 3. El grado de conjugación es del 27,8%. El módulo de almacenamiento del gel es de aproximadamente 363 Pa.

45

Ejemplo 8

Conjugación de AA2G con geles de HA de alto peso molecular reticulado usando BDDE como agente de reticulación, el grado de conjugación es de aproximadamente el 10% en moles, G' es de aproximadamente 240 Pa.

50

Se hidrataron 400,3 mg de HA de alto peso molecular en 2501,3 mg de NaOH al 4% en peso en una jeringa durante aproximadamente 30 min. Se colocaron 1200 mg de AA2G en un vial, seguido por 304,7 mg de BDDE y 1178,6 mg de NaOH al 16% en peso. Se dejó reaccionar la disolución anterior (pH >12) en un baño de agua a 50°C durante ~20 min y se transfirió a una jeringa de 20 cm³, antes de la adición al HA hidratado. Después de la adición, se mezcló la mezcla aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó la pasta mezclada en un vial y en un baño de agua a 50°C durante aproximadamente 2,5 horas. Después de aproximadamente 2,5 horas, se formó el gel de HA-AA2G. Luego se añadieron 226,6 mg de HCl 12 M a 8492,2 mg de 10X PBS, pH 7,4 para conseguir disolución de HCl-PBS y se añadió la disolución de HCl-PBS para neutralizar e hinchar el gel. Se dejó neutralizar e hinchar el gel a lo largo de 48 h en un agitador orbital. Se dimensionó el gel a través de un tamiz de ~60 µm y se mezcló aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó el gel en una bolsa de diálisis RC con límite de PM de 15.000 y se dializó en PBS, tampón de pH 7,4. La diálisis continuó durante aproximadamente 114 horas, con cambios frecuentes de tampón de PBS. Después de la diálisis, se colocó el gel en una jeringa y se almacenó en una nevera a 4°C. El grado de conjugación y las propiedades reológicas del gel se miden en un procedimiento tal como se describió en el ejemplo 2 y 3. El grado de conjugación es de aproximadamente el 10% en moles. El módulo de almacenamiento del gel es de aproximadamente 240 Pa.

65

Ejemplo 9

Conjugación de Vitagen a geles de HA de bajo peso molecular reticulado usando BDDE como agente de reticulación, el grado de conjugación es del 15% en moles, G' es de aproximadamente 365 Pa.

Se hidrataron 398,2 mg de HA de bajo peso molecular en 1753,24 mg de NaOH al 1% en peso en una jeringa durante aproximadamente 40 min. Se añadió BDDE (311,7 mg) al HA hinchado y se continuó dejando que el HA se hinchara durante otros 80 min. La mezcla de HA/BDDE hinchada se hizo reaccionar previamente a 50°C durante 20 min.

Se disolvieron por separado 801,9 mg de Vitagen en 1459,7 mg de NaOH al 10% en peso y se mezclaron con HA que se hizo reaccionar previamente con BDDE. La mezcla continuó reaccionando a 50°C durante otras 2,5 h. Después de aproximadamente 2,5 horas, se formó el gel de HA-Vitagen. Luego se añadieron 195 mg de HCl 12 M a 9004,0 mg de 10X PBS, pH 7,4 para conseguir disolución de HCl-PBS y se añadió la disolución de HCl-PBS para neutralizar e hinchar el gel. Se dejó neutralizar e hinchar el gel a lo largo de 48 h en un agitador orbital. Se dimensionó el gel a través de un tamiz de ~60 µm y se mezcló aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó el gel en una bolsa de diálisis CE con límite de PM de 20.000 y se dializó en PBS, tampón de pH 7,4. La diálisis continuó durante aproximadamente 120 horas, con cambios frecuentes de tampón de PBS. Después de la diálisis, se colocó el gel en una jeringa y se almacenó en una nevera a 4°C. Las propiedades reológicas del gel se midieron en un procedimiento tal como se describió en el ejemplo 3. El módulo de almacenamiento del gel es de aproximadamente 365 Pa. Se determinó que el grado de conjugación era de aproximadamente el 15% en moles usando un método similar a la determinación de AA2G tal como se describió en el ejemplo 2.

Ejemplo 10

Conjugación de Vitagen con geles de HA de bajo peso molecular reticulado usando BDDE como agente de reticulación, el grado de conjugación es del 12,4% en moles, G' es de aproximadamente 56 Pa.

Se hidrataron 401,7 mg de HA de bajo peso molecular en 1700 mg de NaOH al 1% en peso en una jeringa durante aproximadamente 30 min. Se añadió BDDE (303 mg) al HA hinchado y se continuó dejando que el HA se hinchara durante otros 80 min. La mezcla de HA/BDDE hinchada se hizo reaccionar previamente a 50°C durante 10 min.

Se disolvieron por separado 800 mg de Vitagen en 1500 mg de NaOH al 5% en peso y se mezclaron con HA que se hizo reaccionar previamente con BDDE. La mezcla continuó reaccionando a 50°C durante otras 2,5 h. Después de aproximadamente 2,5 horas, se formó el gel de HA-Vitagen. Luego se añadieron 195 mg de HCl 12 M a 9004,0 mg de 10X PBS, pH 7,4 para conseguir disolución de HCl-PBS y se añadió la disolución de HCl-PBS para neutralizar e hinchar el gel. Se dejó neutralizar e hinchar el gel a lo largo de 48 h en un agitador orbital. Se dimensionó el gel a través de un tamiz de ~60 µm y se mezcló aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó el gel en una bolsa de diálisis CE con límite de PM de 20.000 y se dializó en PBS, tampón de pH 7,4. La diálisis continuó durante aproximadamente 120 horas, con cambios frecuentes de tampón de PBS. Después de la diálisis, se colocó el gel en una jeringa y se almacenó en una nevera a 4°C. Las propiedades reológicas del gel se midieron en un procedimiento tal como se describió en el ejemplo 3. El módulo de almacenamiento del gel es de aproximadamente 56 Pa. Se determinó que el grado de conjugación era de aproximadamente el 12,4% en moles.

Ejemplo 11

Conjugación de Vitagen con geles de HA de bajo peso molecular reticulado usando BDDE como agente de reticulación, el grado de conjugación es del 9,4% en moles, G' es de aproximadamente 13 Pa.

Se hidrataron 403 mg de HA de bajo peso molecular en 1700 mg de NaOH al 1% en peso en una jeringa durante aproximadamente 30 min. Luego se disolvió por separado Vitagen (406,9 mg) en 1500 mg de NaOH al 5% en peso, seguido por la adición de BDDE (440 mg). Se mezcló el HA hinchado con disolución de Vitagen mezclando de jeringa a jeringa y se dejó a temperatura ambiente durante otros 80 minutos. Se colocó la mezcla en un baño de agua a 50°C durante 2,5 h. Se dejó neutralizar e hinchar el gel a lo largo de 48 h en un agitador orbital. Se dimensionó el gel a través de un tamiz de ~60 µm y se mezcló aproximadamente 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se colocó el gel en una bolsa de diálisis CE con límite de PM de 20.000 y se dializó en PBS, tampón de pH 7,4. La diálisis continuó durante aproximadamente 120 horas, con cambios frecuentes de tampón de PBS. Después de la diálisis, se colocó el gel en una jeringa y se almacenó en una nevera a 4°C. Las propiedades reológicas del gel se midieron en un procedimiento tal como se describió en el ejemplo 3. El módulo de almacenamiento del gel es de aproximadamente 13 Pa. Se determinó que el grado de conjugación era de aproximadamente el 9,4% en moles.

Ejemplo 12

Conjugación de Vitagen con HA lineal por medio de química de amidación

Se hidrataron 200,3 mg de HA de alto peso molecular en 10 ml de agua en una jeringa de 60 cm³. Se disolvieron 500 mg de Vitagen en 0,5 ml de agua y se neutralizó la disolución a pH 4,8. Se disolvieron por separado 197,7 mg de EDC y 149 mg de NHS en 6 ml de agua. Se añadieron las disoluciones anteriores (disoluciones y disoluciones de EDC/NHS) a otra jeringa de 60 cm³ que contenía 23,5 ml de agua. Se mezclaron las dos jeringas 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se almacenaron las mezclas en una jeringa y sumergieron en un baño a 37°C durante 4 h. Finalmente, se dializaron las disoluciones frente a tampón de PBS a pH 7,4 hasta que no se observó Vitagen notable. Se determinó el grado de conjugación mediante un método similar tal como se describió en el ejemplo 3. El grado de conjugación es de aproximadamente el 10% en moles.

Ejemplo 13Conjugaciones de AA2P con geles de HA reticulado

Se hidrataron 200,4 mg de HA de bajo peso molecular en 1000 mg de tampón MES 5,2 en una jeringa durante aproximadamente 30 min. Se colocaron 292 mg de AA2P en un vial, seguido por la adición de 300 mg de amina de PEG en estrella. Se dejó reaccionar la disolución anterior a temperatura ambiente durante la noche. Se hidrató el gel con tampón de PBS y se dializó frente a tampón de PBS para retirar el AA2P sin reaccionar. Finalmente, se caracterizó el gel tal como se describió en los ejemplos 2 y 3 para determinar el grado de conjugación y las propiedades reológicas del gel. El grado de conjugación es de aproximadamente el 20% en moles. El módulo de almacenamiento (G') es de aproximadamente 500 Pa.

Ejemplo 14

Conjugación de AA2G con geles de HA reticulado usando HA de bajo peso molecular/de alto peso molecular (90/10 p/p) como material de partida y BDDE como agente de reticulación: el grado de conjugación de AA2G es de aproximadamente el 10% en moles; la concentración de HA es de 24 mg/ml; G' es de aproximadamente 300 Pa.

Se pesaron aproximadamente 800 mg de AA2G en un vial de 20 ml y se añadieron aproximadamente 1284 mg de NaOH al 10,7% p/p. Se tapó el vial y se agitó con vórtex para disolver por completo el AA2G. Se centrifugó el vial a aproximadamente 2000 rpm durante aproximadamente 15 segundos para recoger la disolución en el fondo. Se retiró la tapa del vial y se añadieron aproximadamente 260 mg de BDDE. Se tapó el vial y se colocó en un baño de agua calentado previamente a aproximadamente 50°C durante aproximadamente 30 min.

Se colocaron aproximadamente 360,0 mg de HA de bajo peso molecular y aproximadamente 40 mg de HA de alto peso molecular en una jeringa tapada de 10 ml. Se comprimió el HA hasta aproximadamente la marca de 4 ml de la jeringa usando el émbolo. Se añadieron aproximadamente 1540 mg de disolución de NaOH al 2% p/p para hidratar el HA durante aproximadamente 30 minutos. Se retiró el émbolo de una de las jeringas que contenía el HA hidratante y se transfirió con cuidado con la ayuda de una pipeta el contenido del vial de mezcla previa a la jeringa que contenía el HA hidratante. Volvió a colocarse el émbolo en la jeringa que contenía la disolución de HA hidratante/AA2G/mezcla previa. Esto se mezcló de atrás adelante al menos 10 veces mezclando de jeringa a jeringa. Se extrajo el émbolo de una de las jeringas y se empujó por completo el otro émbolo hasta el final de la jeringa. Se desconectó la jeringa del conector y se transfirió la mezcla de reacción a un vial. Se tapó el vial y se colocó en un baño de agua a 50°C y se reticuló durante 2,5 h. Después de completarse la reacción, se abrió el vial y se cortó el gel en al menos 6-12 trozos con la ayuda de una espátula pequeña de acero inoxidable. Se colocó el gel en un agitador orbital, y se agitó suavemente durante aproximadamente 48 h.

Después de aproximadamente 48 horas de neutralización e hinchamiento, se transfirió el gel a una jeringa de 20 ml y se dimensionó a través de una malla de tamaño de poro de 60 μ m. Se mezcló de atrás adelante el gel dimensionado al menos aproximadamente 10 veces mezclando de jeringa a jeringa. Se transfirió el gel a un tubo de diálisis con límite de PM de 20.000 y se dializó durante aproximadamente 5 días para retirar el AA2G y el BDDE sin reaccionar. Luego se transfirió el gel a jeringas de COC de 0,8 cm³ y se centrifugó a de aproximadamente 4000 a aproximadamente 5000 rpm durante aproximadamente 5 min para eliminar burbujas de aire. Se esterilizaron los geles en condiciones de esterilización en autoclave. Se midieron el grado de conjugación de AA2G y las propiedades reológicas del gel en un procedimiento tal como se describió en los ejemplos 2 y 3. El grado de conjugación fue de aproximadamente el 10%. El módulo de almacenamiento del gel fue de aproximadamente 300 Pa. La concentración del gel fue de aproximadamente 24 mg/ml.

Ejemplo 15

Conjugación de AA2G con geles de HA reticulado usando HA de bajo peso molecular/de alto peso molecular (90/10 p/p) como material de partida y BDDE como agente de reticulación: el grado de conjugación de AA2G es de aproximadamente el 10% en moles; la concentración de HA es de 17,5 mg/ml; G' es de aproximadamente 240 Pa.

Se preparó el gel tal como se describió en el ejemplo 14. Se diluyó el gel con tampón de PBS hasta una

concentración de aproximadamente 17,5 mg/ml. El gel tenía un G' de ~240 Pa.

Ejemplo 16

5 Conjugación de AA2G con geles de HA reticulado usando HA de bajo peso molecular/de alto peso molecular (90/10 p/p) como material de partida y BDDE como agente de reticulación: el grado de conjugación de AA2G es de aproximadamente el 10% en moles; la concentración de HA es de 15 mg/ml; G' es de aproximadamente 200 Pa.

10 Se preparó el gel tal como se describió en el ejemplo 14. Se diluyó adicionalmente el gel con tampón de PBS hasta una concentración de aproximadamente 15 mg/ml. El gel tenía un G' de aproximadamente 200 Pa.

Ejemplo 17

Formulación de un producto de material de relleno dérmico de HA/BDDE con AA2G

15 A cualquiera de los geles descritos en los ejemplos anteriores, después de la diálisis, puede añadirse una cantidad adecuada de gel de HA libre al gel para mejorar y modificar la cohesividad y/o inyectabilidad del gel. Por ejemplo, se hinchan fibras de HA libre en una disolución de tampón fosfato, con el fin de obtener un gel viscoelástico homogéneo (gel de HA "libre"). Se añade este gel no reticulado, antes de la etapa de diálisis, al gel reticulado de HA/BDDE
20 obtenido en el ejemplo 1 (por ejemplo, para obtener una composición que tiene entre aproximadamente el 1% y aproximadamente el 5%, p/p de HA libre). Luego se introduce el gel resultante en jeringas estériles listas para llenar y se esteriliza en autoclave a temperaturas y presiones suficientes para esterilización durante al menos aproximadamente 1 minuto. Después de la esterilización en autoclave, se acondiciona el producto de HA/AA2G final y se distribuye a médicos para su uso como material de relleno dérmico.

25

Ejemplo 18

Formulación de material de relleno dérmico de HA-AA2G que incluye lidocaína

30 Se sigue el procedimiento del ejemplo 17, pero después de la etapa de diálisis y antes de la adición de gel de HA libre, se añade clorhidrato de lidocaína (HCl de lidocaína) a la mezcla. Se solubilizó en primer lugar el (HCl de lidocaína) en forma de polvo en API y se filtró a través de un filtro de 0,2 µm. Se añade disolución de NaOH diluida al gel de HA/AA2G cohesivo con el fin de alcanzar un pH ligeramente básico (por ejemplo, un pH de entre aproximadamente 7,5 y aproximadamente 8). Luego se añade la disolución de HCl de lidocaína al gel ligeramente
35 básico para alcanzar una concentración final deseada, por ejemplo, una concentración de aproximadamente el 0,3% (p/p). El pH resultante de la mezcla de HA/AA2G/lidocaína es entonces de aproximadamente 7 y la concentración de HA es de aproximadamente 24 mg/ml. Se realiza mezclado mecánico con el fin de obtener una homogeneidad apropiada en un reactor convencional equipado con un mecanismo de mezcladora apropiado.

Ejemplo 19

Conjugaciones de aditivos que contienen grupo con función carboxilo con hidrogeles de HA.

45 Aditivos tales como ácido retinoico (también conocido como, tretinoína), adapaleno y ácido alfa-lipoico contienen un grupo con función carboxilo (-COOH). Estos aditivos se conjugan con hidrogeles de HA por medio de esterificaciones usando la química de EDC. Un ejemplo para las conjugaciones según una realización de la invención se describe de la siguiente manera:

50 Se hidratan 200 mg de HA de alto peso molecular en 10 ml de tampón MES a pH 4,8 en una jeringa de 60 cm³. En otra jeringa, se disuelven 200 mg de ácido retinoico en una mezcla de agua-acetona de 5 ml (razón volumétrica agua/acetona de 1:3). Se mezclan las dos jeringas anteriores por medio de un conector de jeringa durante aproximadamente 20 veces. Luego se disuelven por separado 197,7 mg de EDC y 149 mg de NHS en 6 ml de agua en una jeringa distinta. Se conecta la jeringa que contiene EDC y NHS con la jeringa que contiene HA y ácido retinoico para permitir que se mezclen los reactivos al menos durante 20 veces pasando de atrás adelante entre 2
55 jeringas. Se almacenan las mezclas en una jeringa y se sumergen en un baño a 37°C durante 4 h. Se dializan los geles frente a isopropanol para retirar el ácido retinoico sin conjugar, y luego se dializan frente a tampón de PBS en condiciones asépticas. Los geles se acondicionan en jeringas esterilizadas y se almacenan a 4°C.

Ejemplo 20

60

Conjugaciones de aditivos que contienen grupo con función hidroxilo con hidrogeles de HA.

65 Los aditivos tales como retinol (también conocido como, tretinoína), catalasa, dimetilaminoetanol y g-tocoferol contienen un grupo con función hidroxilo (-OH). Estos aditivos se conjugan con hidrogeles de HA por medio de esterificaciones usando la química de EDC. Un ejemplo típico para las conjugaciones se describe de la siguiente manera:

Se hidratan 200 mg de HA de alto peso molecular en 10 ml de tampón de ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES) a pH 4,8 en una jeringa de 60 cm³. En otra jeringa, se disuelven 200 mg de ácido retinoico en 5 ml de mezcla de agua-acetona (razón volumétrica agua/acetona de 1:3). Se mezclan las dos jeringas anteriores por medio de un conector de jeringa durante aproximadamente 20 veces. Luego se disuelven por separado 197,7 mg de EDC y 149 mg de NHS en 6 ml de agua en una jeringa distinta. Se conecta la jeringa que contiene EDC y NHS con la jeringa que contiene HA y retinol para permitir que se mezclen los reactivos al menos durante 20 veces pasando de atrás adelante entre 2 jeringas. Se almacenan las mezclas en una jeringa y se sumergen en un baño a 37°C durante 4 h. Se dializan los geles frente a isopropanol para retirar el retinol sin conjugar, y luego se dializan frente a tampón de PBS en condiciones asépticas. Los geles se acondicionan en jeringas esterilizadas y se almacenan a 4°C.

Ejemplo 21

Conjugaciones de aditivos que contienen grupo con función hidroxilo con hidrogeles de HA mediante modificaciones posteriores.

Esto es esencialmente un procedimiento de dos etapas. Etapa uno: se tratan hidrogeles de HA reticulado, por ejemplo Juvederm® o Restylane® (Medicis Pharmaceutical Corporation, Scottsdale, AZ) con EDC/NHS para activar el grupo carboxilo del HA. Etapa 2: se tratan los hidrogeles de HA activados con aditivos que contienen grupos hidroxilo. Los aditivos que contienen grupos hidroxilo son grupos con función hidroxilo (-OH) de retinol, catalasa, dimetilaminoetanol y g-tocoferol.

Un ejemplo típico para la conjugación de aditivos con geles de HA reticulado es de la siguiente manera:

Se mezclan 2 g de gel Juvederm® con 200 g de EDC y 150 mg de NHS a temperatura ambiente. Luego se añaden 200 mg de retinol en 3 ml de mezcla de acetona-agua. Se hace reaccionar la mezcla anterior a 37°C durante 4 h. Se dializan los geles frente a isopropanol para retirar el retinol sin conjugar, y luego se dializan frente a tampón de PBS en condiciones asépticas. Los geles se acondicionan en jeringas esterilizadas y se almacenan a 4°C.

Ejemplo 22

Conjugación de factores de crecimiento, péptidos o elastina con hidrogeles de HA

Pueden conjugarse con HA aditivos tales como factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante (TGF) y péptidos que contienen grupos con función amina para formar materiales de relleno dérmico beneficiosos. Estos aditivos se conjugan con HA por medio de química de amidación. Un ejemplo típico para la conjugación se describe de la siguiente manera:

Se hidratan 200,3 mg de HA de alto peso molecular en 10 ml de agua de tampón MES a pH 5,4. Se añaden 20 mg de EGF en 100 mg de disolución de MES. A la mezcla anterior, se le añaden 197,7 mg de EDC y 149 mg. Se deja reaccionar la mezcla de reacción resultante a 37°C durante 4 h. Después de completarse la reacción, se dializa adicionalmente el gel frente a isopropanol y luego se dializa frente a tampón de PBS en condiciones asépticas. Los geles se acondicionan en jeringas esterilizadas y se almacenan a 4°C.

Ejemplo 23

Liberación *in vitro* de AA2G de la mezcla física de HA/AA2G y conjugados de HA-AA2G.

Se colocó un gramo de gel en un tubo de diálisis de 1 cm³ (límite de PM, 20.000). Se sumergió el tubo con gel en su interior en un vaso de precipitados que contenía 2 l de tampón de PBS a 37°C. Se monitorizó la liberación de AA2G mediante absorción UV a 260 nm. La liberación de AA2G del gel frente al tiempo de liberación se muestra en la figura 7. Los resultados mostraron que se liberó la mayoría de AA2G en aproximadamente una semana de la mezcla física de HA/AA2G. Los conjugados de HA-AA2G no se liberaron del todo incluso después de 3 semanas. Véase la figura 12.

Ejemplo 24

Liberación *in vitro* de vitamina C (ácido ascórbico) de geles de HA-AA2G

Se realizó una prueba para demostrar que (1) los geles de HA-AA2G conjugados según la invención liberarán vitamina C activa (AsA) mediante la enzima específica α -glucosidasa, (2) la liberación de AsA es dependiente de las concentraciones de enzima y (3) ajustando las condiciones de formulación, puede modificarse la liberación de AsA.

Se prepararon seis muestras, formulaciones, diferentes de HA/AA2G conjugado tal como se describe en otra parte en el presente documento. Las propiedades de estas diversas muestras se indican en la figura 11B.

Materiales usados: α -glucosidasa tipo V de arroz, que contiene 1,2 mg/ml de proteína y 55,83 unidades/mg de proteína, Sigma-Aldrich, EE.UU.; sal sódica de 2,6-dicloroindofenol hidratada (DCIP), Sigma-Aldrich, EE.UU.; comprimido de solución salina tamponada con fosfato (PBS), Sigma-Aldrich, EE.UU.; vial Flacons de 20 ml de VWR TraceClean, VWR, EE.UU.; y gel de HA conjugado con AA2G (HA-AA2G).

5

Preparación de reactivos:

Se prepararon 1000 ml de tampón de PBS (pH 7,4) según las instrucciones del fabricante.

10 Se preparó disolución de DCIP 200 μ M con tampón de PBS.

Procedimiento de liberación para cada muestra:

15 En un vial, se añadieron aproximadamente 250 mg de gel de HA-AA2G (densidad del gel igual a aproximadamente 1 gramo/ml) a 2,25 ml de tampón de PBS y se mezcló bien. Luego se añadieron 0,25 ml de disolución de α -glucosidasa y se mezcló bien. Se selló el vial. La concentración final de α -glucosidasa fue de aproximadamente 6,0 unidades/ml.

20 Se purgó el vial sellado mediante gas nitrógeno durante 3 min antes de la incubación en un baño de agua a 37°C.

Se preparó una muestra para cada punto de tiempo, siendo los puntos de tiempo desde 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 32 hasta 48 horas desde el momento de la adición de disolución de α -glucosidasa.

25 Se tomó una muestra en cada punto de tiempo. Se valoró cada muestra con la disolución de DCIP hasta que el color azul claro ya no desapareció. Se registró el volumen de DCIP consumido.

Se calculó la cantidad de vitamina C liberada basándose en la concentración y el volumen de DCIP.

Resultados de liberación:

30 La figura 11A muestra la liberación de vitamina C activa, AsA, (en % en moles) de diferentes muestras de HA-AA2G en función del tiempo de liberación (por ejemplo, si el AsA liberado es del 20% en moles, esto significa que el 20% de AA2G se convirtió en AsA).

35 Ejemplo 25

Colagénesis *in vitro* de conjugados de HA-AA2G

40 Para medir la producción de colágeno *in vitro*, se usó un ensayo colorimétrico con rojo picrosirio (figura 13). Se cultivaron células de fibroblastos de piel humana durante 24 horas en medios que contenían suero. A las 24 horas, se reemplazaron esos medios por medios libres de suero, libres de vitamina C, más fragmentos de geles de HA generados mediante tratamiento con hialuronidasa. La hialuronidasa rompe el gel en fragmentos solubles pero no libera AA2G o Vitagen conjugado de la estructura principal de HA. Se cultivaron las células durante 7 días adicionales, después de los cuales se retiraron las células de los pocillos dejando sólo la matriz extracelular producida por las células. Se tiñó el colágeno en esta matriz extracelular con rojo picrosirio y se solubilizó en una disolución de hidróxido de sodio y se midió el contenido de colágeno mediante la absorbancia de luz roja (figura 14). Cuanto más oscura era la disolución, más colágeno produjeron las células. Véase la figura 13.

50 Usando este método, se sometieron a prueba varios geles de HA-vitamina C y se compararon con fragmentos de gel de HA sin vitamina C (Juvederm® Ultra Plus). El objetivo de este método fue someter a prueba si los fragmentos de geles de HA-vitamina C podían aumentar la deposición de colágeno por fibroblastos dérmicos en comparación con HA sin vitamina C. La figura 14 muestra los resultados de uno de muchos estudios. En la figura 14, puede observarse que los geles tanto de HA-AA2G como de HA-Vitagen aumentan la producción de colágeno por fibroblastos en comparación con Juvederm® Ultra Plus. Se normalizaron todos los datos con respecto a la producción de colágeno por fibroblastos en presencia de ácido ascórbico 3 mM.

55 Ejemplo 26

Colagénesis *in vivo* de un implante de 4 semanas

60 El estudio *in vivo* en un modelo de rata de 4 semanas ha demostrado que los hidrogeles conjugados de vitamina C, por ejemplo geles de HA-AA2G según la invención, promueven la neocolagénesis y la activación celular en comparación con Juvederm® Ultra Plus (gel de HA sin AA2G) así como en comparación con una mezcla física de HA con el 10% en moles de AA2G (no conjugada, mezcla física de HA y AA2G).

65

Un método para evaluar la respuesta tisular a formulaciones de material de relleno es evaluar el tipo y la concentración de colágeno I en la superficie de contacto implante/tejido después de las 4 semanas *in vivo*. Si el material es bioinerte, entonces la concentración, el tipo y la distribución de colágeno adyacente al implante deben ser similares al colágeno en tejido de control. Si el material es bioactivo, entonces habrá un aumento en la concentración de colágeno local. Dado que este efecto se localiza en el tejido directamente adyacente al gel, se usó inmunohistoquímica para medir la distribución relativa de colágeno I en función de la distancia de la superficie de contacto gel/tejido en comparación con regiones de control después de 4 semanas de la implantación en el tejido subcutáneo de ratas Sprague Dawley. Los geles de HA con AA2G conjugado indujeron un aumento en la densidad de colágeno local en el tejido dentro de 80 micrómetros del implante con respecto a Juvederm® Ultra Plus o HA mezclado físicamente con AA2G. La figura 15 muestra la concentración relativa de colágeno tipo I en función de la distancia del límite gel/tejido.

También se evaluó la histología de la penetración de tejido en el bolo de gel. Se tiñó el colágeno penetrado con policromía de Herovici y se usaron técnicas de análisis de imágenes para estimar el porcentaje de penetración de tejido en el bolo de gel. Hubo un aumento estadísticamente significativo en la penetración de tejido en el gel de HA conjugado con AA2G después de 4 semanas *in vivo* en comparación con Juvederm® Ultra Plus o HA mezclado físicamente con AA2G. La figura 16 muestra el % de penetración de tejido en geles a las 4 semanas de la implantación.

Ejemplo 27

HA/AA2G para defectos faciales de las mejillas

Este ejemplo ilustra el uso de composiciones y métodos divulgados en el presente documento para un trastorno facial.

Una mujer de 58 años de edad se presentó con un rostro delgado. Sentía que su rostro parecía envejecido, triste y amargado debido a la menor plenitud del contorno de sus mejillas. La evaluación preoperatoria de la persona incluye los antecedentes y el examen físico de rutina además del consentimiento informado completo que divulga todos los riesgos y beneficios relevantes del procedimiento. El médico que evalúa a la paciente determina que es una candidata para la administración de las composiciones de material de relleno dérmico y los métodos divulgados en el presente documento.

Se proporciona una composición de la invención, tal como se describió en el ejemplo 17, en una jeringa de 20 ml. Se usan cánulas de infiltración roma de un agujero (diámetro interno de 3 mm) para colocar aproximadamente 15 ml de la composición en la jeringa por vía subcutánea y bajo el sistema musculoponeurótico superficial en las mejillas izquierda y derecha.

Se monitoriza a la paciente durante aproximadamente 7 días. El médico evalúa el área de tratamiento y determina que el tratamiento fue exitoso. Las mejillas de la mujer están más llenas que antes del tratamiento. Tanto la mujer como su médico están satisfechos con los resultados del procedimiento porque ella parece más joven que cuando llegó para recibir el tratamiento.

Ejemplo 25

Tratamiento de defectos faciales de los párpados

Este ejemplo ilustra el uso de composiciones y métodos divulgados en el presente documento para un tratamiento de defectos de los párpados.

Una mujer de 37 años de edad se presentó con arrugas finas alrededor de los ojos y notifica que sus ojos la hacían parecer envejecida y enfadada. La evaluación preoperatoria de la persona incluye los antecedentes y el examen físico de rutina además del consentimiento informado completo que divulga todos los riesgos y beneficios relevantes del procedimiento. El médico que evalúa a la paciente determina que es una candidata para la administración de las composiciones de material de relleno dérmico y los métodos divulgados en el presente documento.

Se proporciona una composición, elaborada tal como se describió en el ejemplo 18, en una jeringa de 20 ml. Se inyectan aproximadamente 2,5 ml de la composición con una aguja fina por vía subcutánea en la piel debajo de las arrugas en las regiones adyacentes a los ojos.

Se monitoriza a la paciente durante aproximadamente 7 días. El médico evalúa el ojo de la paciente y determina que el tratamiento fue exitoso. Tanto la mujer como su médico están satisfechos con los resultados del procedimiento porque sus ojos parecen renovados y la piel parece rejuvenecida. Aproximadamente un año después del procedimiento, la mujer indica que su calidad de vida ha mejorado.

Ejemplo 26

Tratamiento de cicatrices de acné

5 Este ejemplo ilustra el uso de composiciones y métodos divulgados en el presente documento para el tratamiento de cicatrices de acné.

10 Un hombre de 25 años de edad se presenta con cicatrices de acné moderadas en la línea maxilar que incluyen depresiones y fosas. Notifica que no está satisfecho con su aspecto y siente que se inhibe socialmente debido a la percepción de su aspecto. La evaluación preoperatoria de la persona incluye los antecedentes y el examen físico de rutina además del consentimiento informado completo que divulga todos los riesgos y beneficios relevantes del procedimiento. El médico que evalúa al paciente determina que es un candidato para la administración de las composiciones de material de relleno dérmico y los métodos divulgados en el presente documento.

15 Se proporciona una composición, elaborada tal como se describió en el ejemplo 16, en jeringas de 10 ml. El médico inyecta una pequeña cantidad de la composición debajo de la piel en cada área con depresión o fosa de la línea maxilar del paciente para elevar el área para que coincida con la piel circundante.

20 El paciente regresa para una visita de seguimiento con el médico en 14 días. El médico evalúa al paciente y determina que el tratamiento fue exitoso. El hombre notifica que está satisfecho con los resultados del procedimiento porque su piel tiene un aspecto más liso y las cicatrices de acné son sustancialmente menos visibles. Aproximadamente seis meses después del procedimiento, el hombre regresa para un tratamiento de seguimiento. Notifica al médico que su calidad de vida ha mejorado en gran medida debido al procedimiento y ya no se avergüenza de su aspecto.

25 En conclusión, debe entenderse que aunque algunos aspectos de la presente memoria descriptiva se han descrito con referencia a las diversas realizaciones, un experto en la técnica apreciará fácilmente que los ejemplos específicos divulgados son sólo ilustrativos de los principios del contenido divulgado en el presente documento. Por tanto, debe entenderse que el contenido divulgado no se limita de ningún modo a la metodología, el protocolo y/o los reactivos, etc., particulares descritos en el presente documento. Como tal, los expertos en la técnica pueden hacer numerosas y diversas modificaciones o cambios a o pueden realizarse configuraciones alternativas del contenido divulgado según las enseñanzas en el presente documento sin apartarse del alcance de la presente memoria descriptiva. Pueden hacerse cambios en detalle sin apartarse del espíritu de la invención tal como se define en las reivindicaciones adjuntas. Por último, la terminología usada en el presente documento es sólo con el propósito de describir realizaciones particulares, y no se pretende que limite el alcance de la presente invención, que se define únicamente por las reivindicaciones. Además, se pretende que toda la materia contenida en la descripción anterior o mostrada en los dibujos adjuntos debe interpretarse sólo como ilustrativa y no limitativa. Por consiguiente, la presente invención no se limita a eso precisamente tal como se muestra y se describe.

40 Se describen determinadas realizaciones de esta invención en el presente documento, incluyendo el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la invención. Por supuesto, variaciones de estas realizaciones descritas será evidentes para los expertos habituales en la técnica tras la lectura de la descripción anterior.

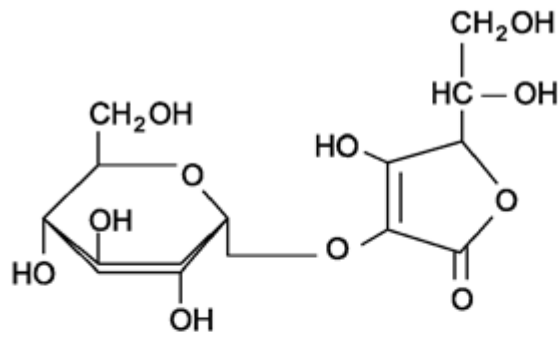
45 Las agrupaciones de elementos o realizaciones alternativas de la invención divulgada en el presente documento no deben interpretarse como limitaciones. Cada miembro del grupo puede referirse a y reivindicarse de manera individual o en cualquier combinación con otros miembros del grupo u otros elementos encontrados en el presente documento. Se anticipa que pueden incluirse uno o más miembros de un grupo en, o eliminarse de, un grupo por motivos de conveniencia y/o patentabilidad. Cuando se produce cualquier inclusión o deleción de este tipo, se considera que la memoria descriptiva contiene el grupo modificado, cumpliendo de ese modo la descripción escrita de todos los grupos de Markush usados en las reivindicaciones adjuntas.

50 A menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de componentes, propiedades tales como peso molecular, condiciones de reacción, y así sucesivamente, usados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones deben entenderse como que se modifican en todos los casos por el término "aproximadamente". Tal como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" significa que el elemento, parámetro o término así calificado abarca un intervalo de más o menos el diez por ciento por encima y por debajo del valor del elemento, parámetro o término indicado. Por consiguiente, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que pretenden obtenerse mediante la presente invención. Como mínimo, y no como un intento de limitar la aplicación de la doctrina de equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada parámetro numérico debe interpretarse al menos a la luz del número de dígitos significativos notificados y aplicando técnicas de redondeo habituales. A pesar de que los intervalos y parámetros numéricos que establecen el amplio alcance de la invención son aproximaciones, los valores numéricos expuestos en los ejemplos específicos se notifican de forma tan precisa como sea posible. Sin embargo, cualquier valor numérico contiene de manera inherente determinados errores que resultan necesariamente de la desviación estándar encontrada en sus mediciones de prueba respectivas.

- Los términos “un”, “una”, “el/la” y referentes similares usados en el contexto de describir la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) deben interpretarse para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o se contradiga claramente por el contexto. La enumeración de intervalos de valores en el presente documento pretende servir simplemente como un método abreviado de referirse de manera individual a cada valor por separado que se encuentra dentro del intervalo. A menos que se indique lo contrario en el presente documento, cada valor individual se incorpora en la memoria descriptiva como si se enumerara de manera individual en el presente documento. Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en el presente documento o se contradiga claramente de otro modo por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o lenguaje a modo de ejemplo (por ejemplo, “tal como”) proporcionado en el presente documento pretende simplemente iluminar mejor la invención y no plantea una limitación en el alcance de la invención de otro modo reivindicada. Ningún lenguaje en la memoria descriptiva debe interpretarse como indicativo de ningún elemento no reivindicado esencial para la práctica de la invención.
- 5
- 10
- 15 Algunas realizaciones específicas divulgadas en el presente documento pueden limitarse adicionalmente en las reivindicaciones usando el lenguaje de que consiste en o que consiste esencialmente en. Cuando se usa en las reivindicaciones, ya sea tal como se presenta o añade por enmienda, el término de transición “que consiste en” excluye cualquier elemento, etapa o componente no especificado en las reivindicaciones. El término de transición “que consiste esencialmente en” limita el alcance de una reivindicación a los materiales o las etapas especificados y aquellos que no afectan de manera material a la(s) característica(s) básica(s) y nueva(s). Algunas realizaciones de la invención reivindicadas de ese modo se describen y permiten inherente o expresamente en el presente documento.
- 20

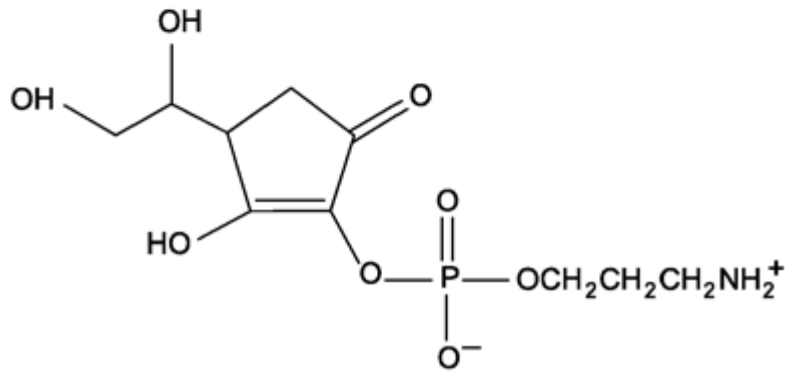
REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende ácido hialurónico (HA) y un derivado de vitamina C conjugado de manera covalente con el ácido hialurónico, en la que un grado de conjugación es de entre aproximadamente el 3% en moles y aproximadamente el 40% en moles para su uso como medicamento en un método para el tratamiento de piel, para su introducción en la piel de un paciente, logrando de ese modo colagénesis mejorada en la piel, en la que el derivado de vitamina C se selecciona de 2-fosfato de ácido L-ascórbico (AA-2P), 2-glucósido de ácido L-ascórbico (AA2G), 3-aminopropilfosfato de ascorbilo, y combinaciones de los mismos, en la que el ácido hialurónico comprende no más de aproximadamente el 20% p/p de un ácido hialurónico de alto peso molecular que tiene un peso molecular de entre aproximadamente 1,0 M Dalton y aproximadamente 3,0 M Dalton.
2. Composición para su uso según la reivindicación 1, en la que el ácido hialurónico comprende un HA de bajo peso molecular que tiene un peso molecular de entre aproximadamente 300 K Dalton y aproximadamente 500 K Dalton.
3. Composición para su uso según la reivindicación 1, en la que el ácido hialurónico comprende no más de aproximadamente el 10% p/p de un ácido hialurónico de alto peso molecular que tiene un peso molecular de entre aproximadamente 1,0 M Dalton y aproximadamente 3,0 M Dalton.
4. Composición para su uso según la reivindicación 1, en la que el ácido hialurónico comprende al menos el 80% p/p, preferiblemente al menos el 90% p/p de un HA de bajo peso molecular que tiene un peso molecular de entre aproximadamente 300 K Dalton y aproximadamente 500 K Dalton.
5. Composición para su uso según la reivindicación 1, en la que el ácido hialurónico se reticula con epóxido de PEG en estrella, con amina de PEG en estrella o con diglicidil éter de 1,4-butanodiol (BDDE).
6. Composición para su uso según la reivindicación 1, en la que el grado de conjugación es de entre aproximadamente el 3% en moles y aproximadamente el 15% en moles, o preferiblemente en la que el grado de conjugación es de aproximadamente el 10% en moles.
7. Composición para su uso según la reivindicación 1, en la que el derivado de vitamina C es 2-glucósido de ácido L-ascórbico (AA2G).
8. Composición que comprende ácido hialurónico (HA) reticulado y un derivado de vitamina C conjugado de manera covalente con el ácido hialurónico, en la que un grado de conjugación es de entre aproximadamente el 3% en moles y aproximadamente el 40% en moles, para su uso como medicamento en un método para la introducción en la piel adyacente a una arruga, una cicatriz o un defecto en la piel para tratar arrugas, cicatrices o defectos en la piel de un paciente, logrando de ese modo un aspecto reducido de la arruga, la cicatriz o el defecto, en la que el derivado de vitamina C se selecciona de 2-fosfato de ácido L-ascórbico (AA-2P), 2-glucósido de ácido L-ascórbico (AA2G), 3-aminopropilfosfato de ascorbilo, y combinaciones de los mismos, en la que el ácido hialurónico comprende no más de aproximadamente el 20% p/p de un HA de alto peso molecular que tiene un peso molecular de entre aproximadamente 1,0 M Dalton y aproximadamente 3,0 M Dalton.
9. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que el ácido hialurónico comprende un HA de bajo peso molecular que tiene un peso molecular de entre aproximadamente 300 K Dalton y aproximadamente 500 K Dalton.
10. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que el ácido hialurónico comprende al menos el 80% p/p de un HA de bajo peso molecular que tiene un peso molecular de entre aproximadamente 300 K Dalton y aproximadamente 500 K Dalton.
11. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que el grado de conjugación es de entre aproximadamente el 3% en moles y aproximadamente el 15% en moles o preferiblemente en la que el grado de conjugación es de aproximadamente el 10% en moles.
12. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que el ácido hialurónico se reticula con diglicidil éter de 1,4-butanodiol (BDDE).
13. Composición para su uso según la reivindicación 8, en la que el derivado de vitamina C es 2-glucósido de ácido L-ascórbico (AA2G).



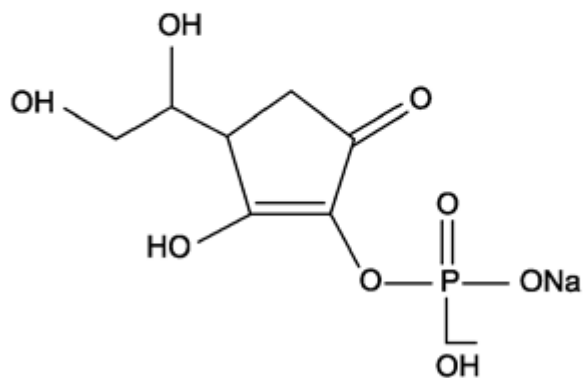
AA2G, (2-glucósido de ácido L-ascórbico)

FIG. 1



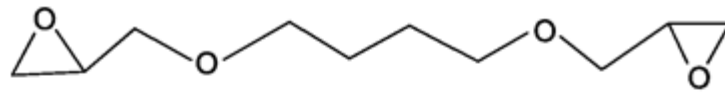
Vitagen, (3-aminopropilfosfato de ascorbilo)

FIG. 2



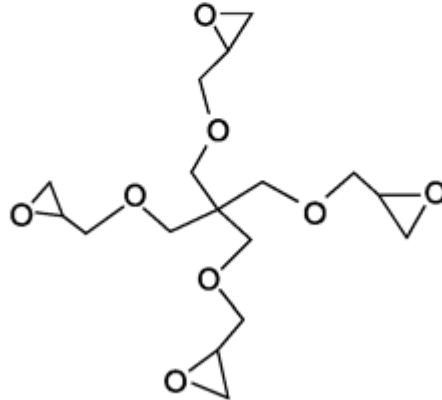
AA2P, fosfato de ascorbilo y sodio

FIG. 3



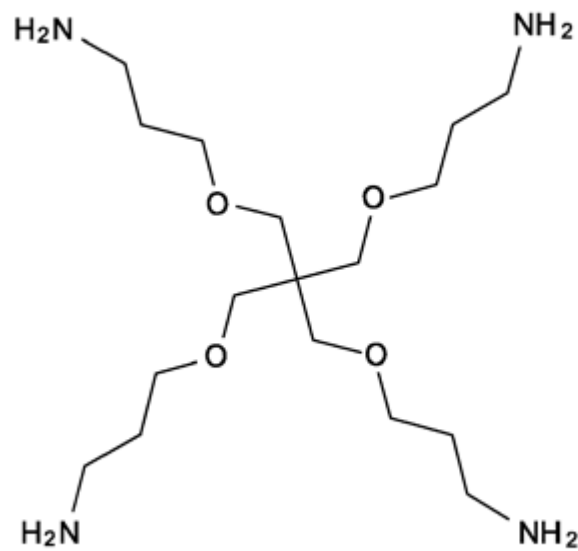
BDDE, diglicidil éter de 1,4-butanodiol

FIG. 4



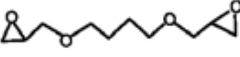
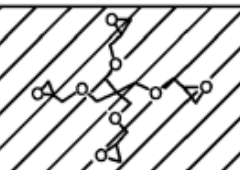
epóxido de PEG en estrella, glicidil éter de pentaeritritol

FIG. 5



amina de PEG en estrella, (3-aminopropil) éter de pentaeritritol

FIG. 6

ID de muestra	Agente de reticulación	Grado de conjugación (HA-AA2G, % en moles)	G' (Pa)
	 BDDE	12	69
		9.78	291
		10.47	377
		12.44	1160
	 Epóxido de PEG en estrella	32.26	132
		31.25	263
		20.48	421
		31.87	1160

HA-AA2G/Epoxilo: resultados de la síntesis de geles

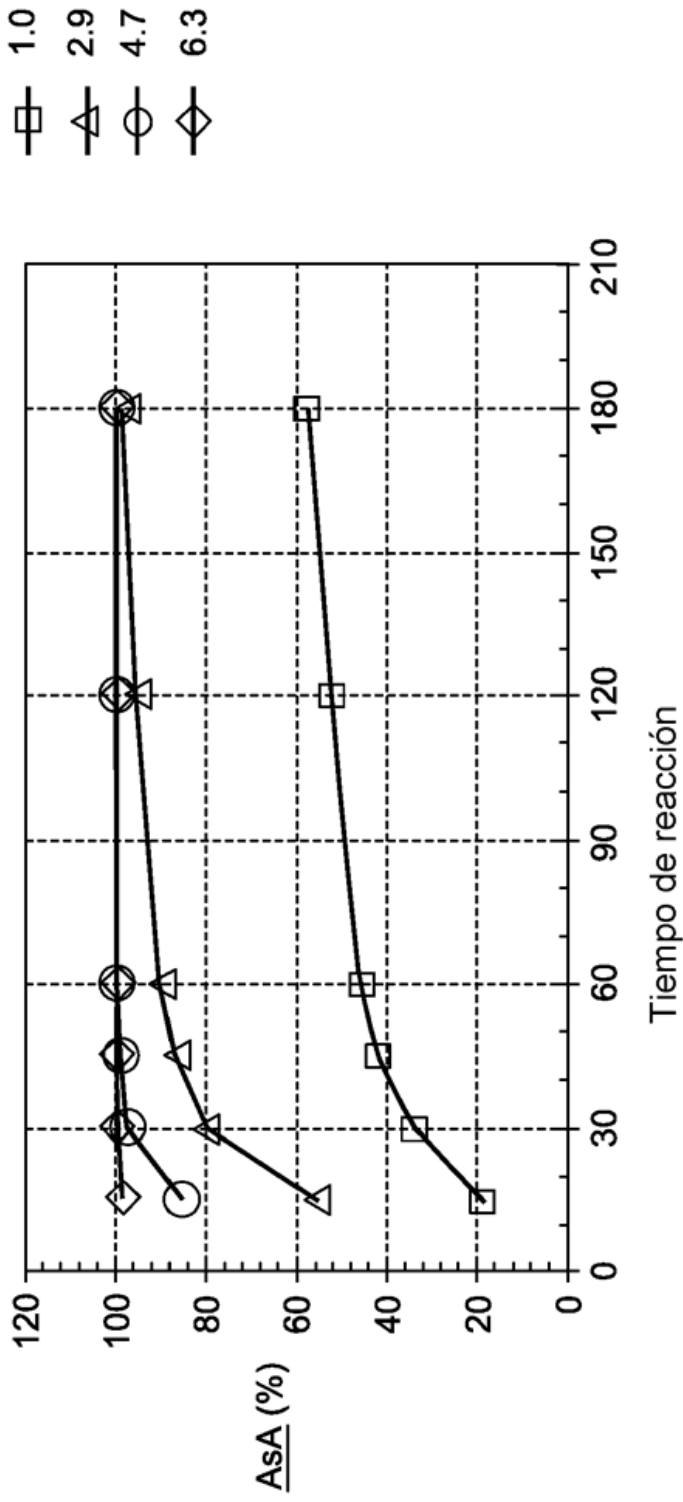
FIG. 7

Grado de conjugación (HA-AA2G, % en moles)	Conc. de gel (mg/ml)	G' (Pa)
8.0	25	42
12.0	17	69
11.6	24	113
12.6	24	237
9.8	17	291
10.5	17	377
8.5	26	700
13.0	22	1010
11.9	23	1260

HA-AA2G (BDDE)

FIG. 8

Efecto de la conc. de α -glucosidasa sobre la liberación de AsA de la disolución de AA2G-PBS

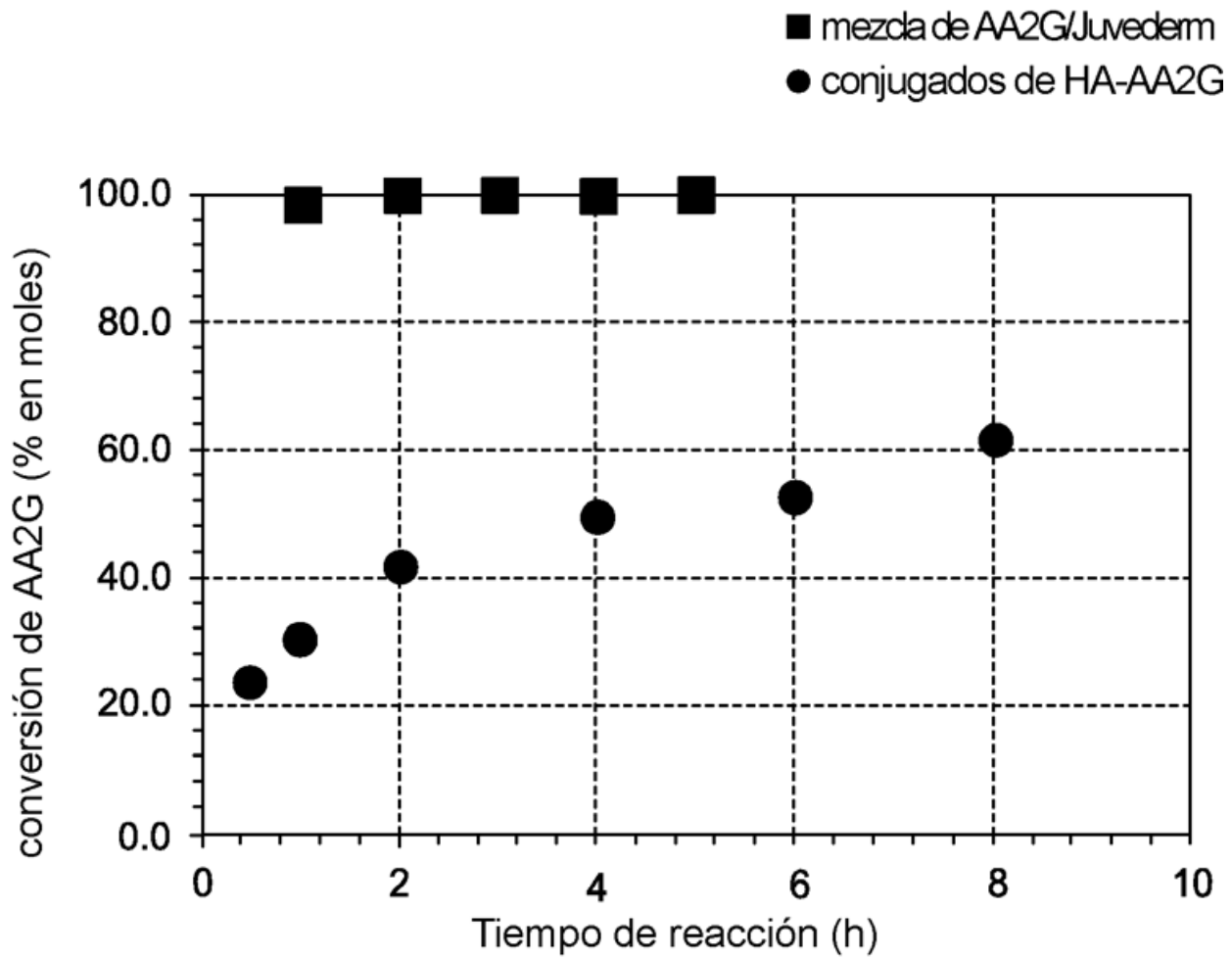


Establecido un método enzimático de α -glucosidasa para escindir de manera eficaz AA2G en AsA

- Conversión rápida
- La conversión de AA2G depende de la conc. de enzima; el 100% de conversión se logra en un plazo de unos pocos min a la mayor conc. de enzima
- La reacción sigue una cinética de primer orden

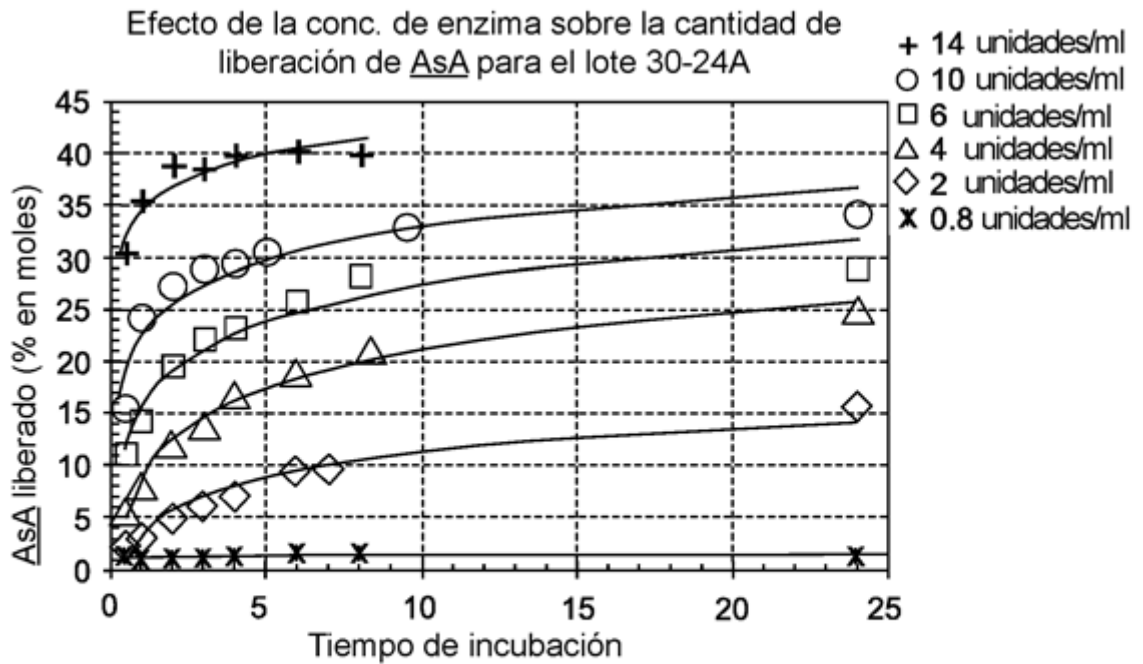
$$C = C_0 (1 - e^{-kt})$$

FIG. 9



- AA2G se convierte en AsA de manera instantánea en una mezcla física de HA-AA2G
- El conjugado de HA-AA2G mostró una conversión sostenida en AsA

FIG. 10



Liberación de AsA de diferentes formulaciones de gel de conjugado de HA-AA2G

- × 30-26B (BDDE)
- 30-21D (BDDE)
- ◇ 30-24B (BDDE)
- 30-24A (BDDE)
- 30-14A (PEG de 4 brazos)
- △ 30-24C (PEG de 4 brazos)

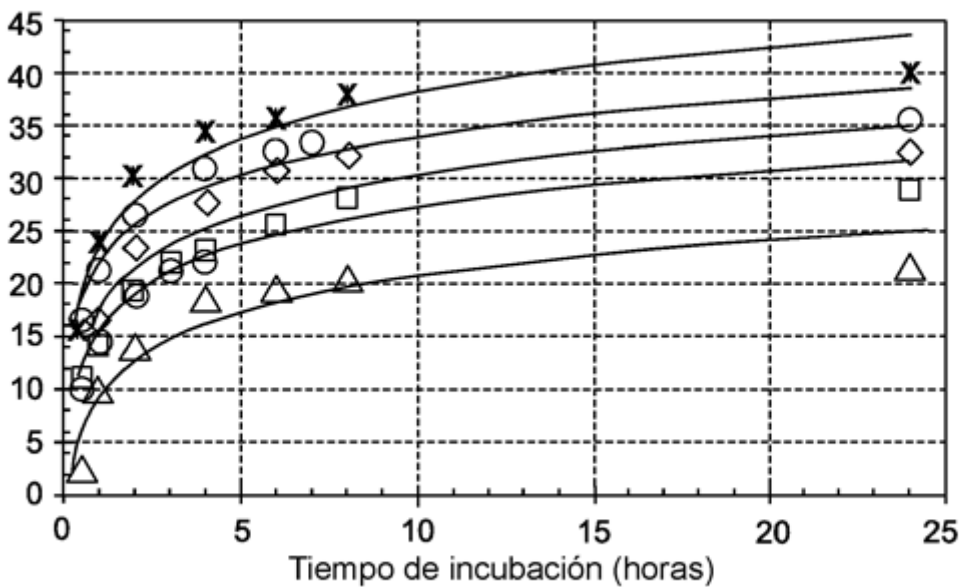
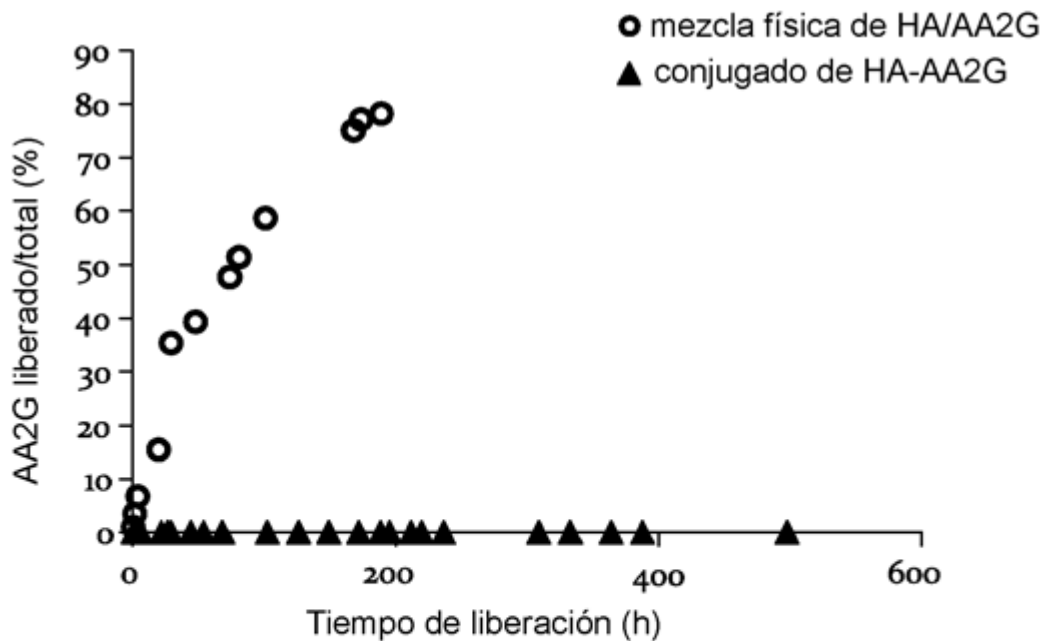


FIG. 11A

ID de muestra	Agente de reticulación	Grado de conjugación (moles de AsA/moles de AA2G)%	G'(Pa)	G''/G'
30-26B	BDDE	10.49	67	0.160
30-21D	BDDE	9.78	304	0.102
30-24B	BDDE	10.04	922	0.125
30-24A	BDDE	13.76	963	
30-14A	PEG en estrella	19.30	410	0.07
30-24C	PEG en estrella	31.87	1320	0.103

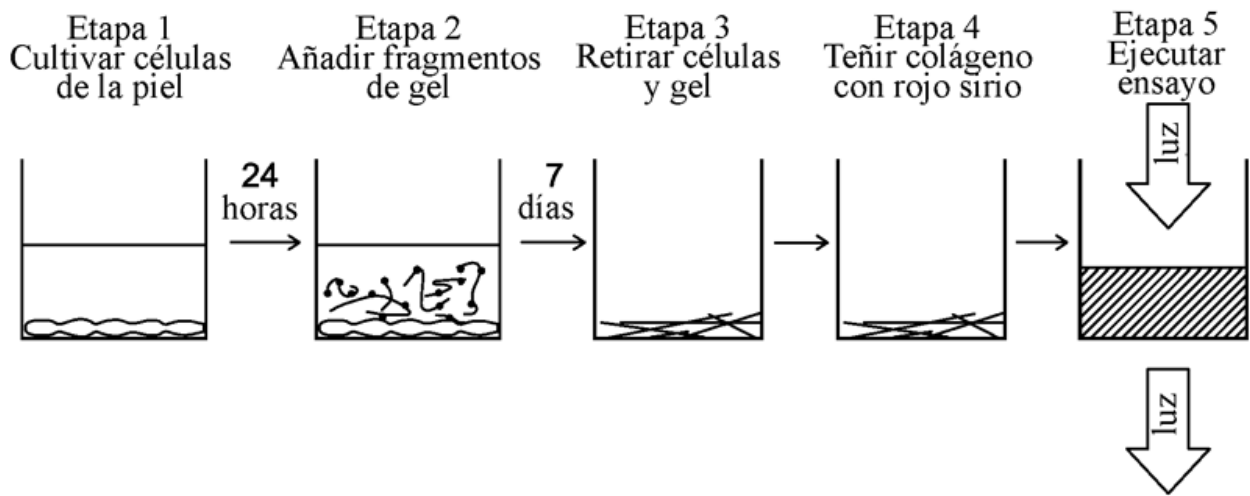
Para la misma formulación, la cantidad liberada aumenta con el aumento de la concentración de enzima.

FIG. 11B



- AA2G mezclado físicamente, liberación rápida a través de difusión (~ 1 semana), aclaramiento rápido in vivo. SIN biodisponibilidad sostenida
- AA2G conjugado, liberación lenta no difusiva impulsada por escisión enzimática (de semanas a meses). Biodisponibilidad sostenida

FIG. 12



Método para medir la producción de colágeno por fibroblastos dérmicos

FIG. 13

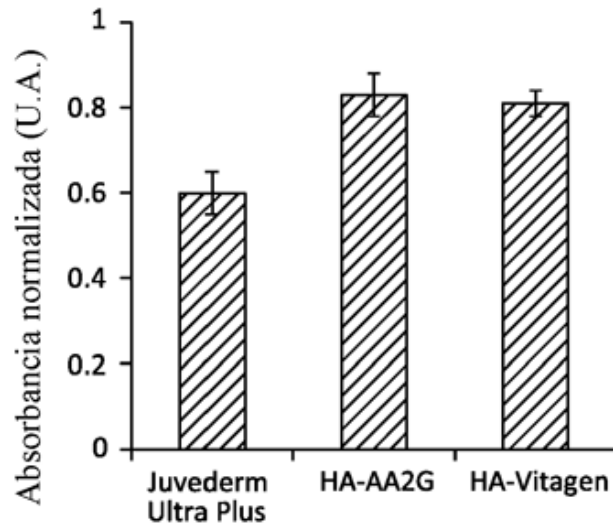


FIG. 14

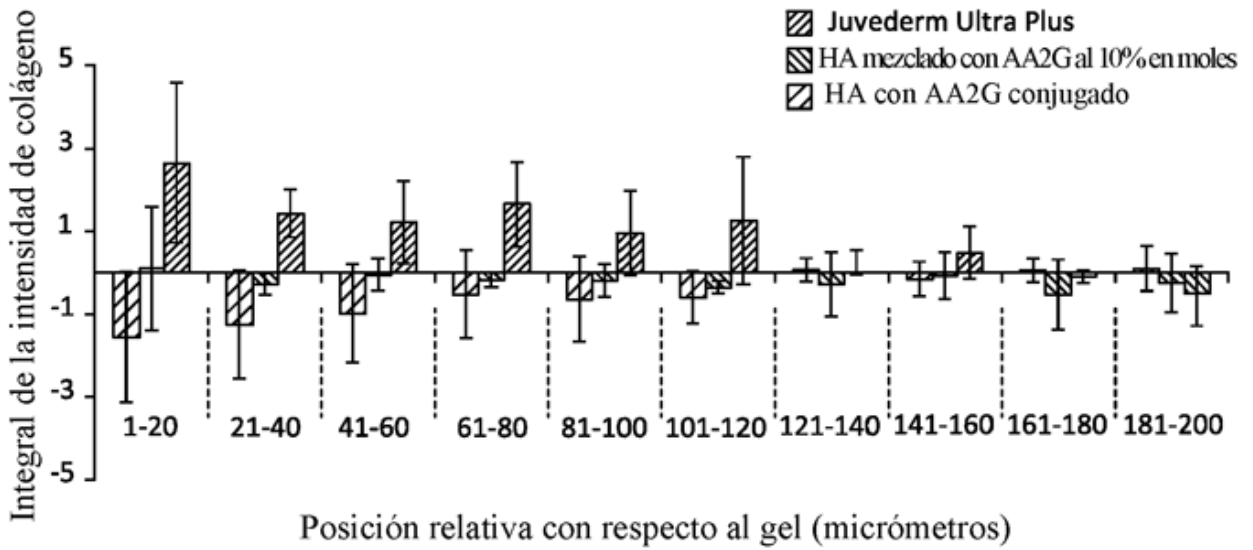


FIG. 15

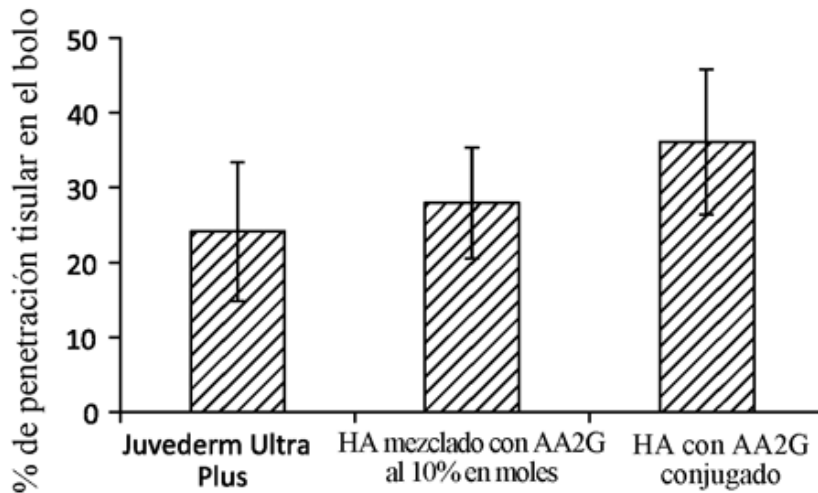


FIG. 16