

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 11.05.09.

30 Priorité :

43 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 12.11.10 Bulletin 10/45.

56 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

60 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

71 Demandeur(s) : TEOXANE — CH.

72 Inventeur(s) : BOURDON FRANCOIS.

73 Titulaire(s) : TEOXANE.

74 Mandataire(s) : NONY & ASSOCIES.

54 PROCEDE DE PREPARATION D'UN GEL RETICULE.

57 Procédé de préparation d'un gel réticulé d'au moins
un polymère ou un de ses sels, comprenant au moins les
étapes consistant à:

a) disposer d'un milieu aqueux contenant au moins un
polymère,

b) former un gel homogène à partir du milieu de l'étape
a),

c) mettre au contact le gel obtenu en étape b) avec une
quantité efficace d'au moins un agent réticulant,

d) réticuler ledit mélange formé en étape c), et

e) récupérer ledit hydrogel réticulé,

caractérisé en ce qu'au moins lesdites étapes a) à d)
sont réalisées au sein d'une cavité hermétique délimitée au
moins partiellement par une paroi déformable, le mélange
présent dans la cavité étant exposé en étape d) à des con-
ditions propices à la réticulation.



La présente invention vise à proposer un nouveau mode de préparation d'hydrogels à base d'un polymère réticulé, plus particulièrement dérivant de polysaccharide, et de préférence d'acide hyaluronique ou de l'un de ses sels.

La présente invention propose notamment un procédé permettant d'accéder à
5 une qualité d'hydrogel particulièrement avantageuse pour le comblement durable des défauts de volume de la peau.

L'acide hyaluronique est connu pour ses propriétés viscoélastiques ainsi que sa très grande propension à absorber l'eau. Ses propriétés expliquent en grande partie l'élasticité de la peau. Ses biocompatibilités, tolérance et défaut de toxicité sont tels que
10 depuis plus de 10 ans, cette molécule a des applications dans les domaines médicaux et cosmétiques.

L'acide hyaluronique est notamment utilisé dans le comblement des rides.

Les rides proviennent plus particulièrement d'un affaissement local de la structure du derme. Ainsi, l'injection dans le derme d'un hydrogel réticulé de polymère au
15 niveau des rides à traiter permet d'amoindrir, voire d'effacer la dépression de l'épiderme. Les injections se font à l'aide de seringues pré-remplies contenant l'hydrogel stérile. Toutefois, les dépressions les plus profondes nécessitent d'injecter des gels relativement visqueux.

On sait, d'une manière générale, que toute molécule est beaucoup plus
20 résistante à la dégradation et à la chaleur lorsqu'elle est réticulée. Ainsi, l'intérêt de réticuler l'acide hyaluronique est-il connu. Cet acide hyaluronique réticulé est en outre beaucoup plus stable dans l'organisme que la molécule d'acide hyaluronique. Il résiste également mieux à une stérilisation à l'autoclave.

Un certain nombre de procédés de préparation de gels réticulés de polymères,
25 voire de polysaccharides a déjà été proposé. D'une manière générale, ces procédés requièrent deux étapes principales, la première consiste à dissoudre le polymère considéré dans un milieu propice à son homogénéisation et la seconde vise à ajouter un agent apte à induire sa réticulation. Selon les conditions spécifiques retenues pour la réticulation, il s'avère possible d'ajuster la viscosité ou encore les propriétés rhéologiques de l'hydrogel
30 réticulé formé.

A titre illustratif de ces procédés, peuvent notamment être cités les procédés décrits dans US 2006/0105022, qui comprend l'utilisation d'un mélange comprenant au

moins 10 % d'acide hyaluronique, un agent réticulant et de l'eau dans des conditions acides ou basiques, dans WO 2006/056204, qui comprend une étape de traitement du gel d'acide hyaluronique réticulé avec du divinylsulfone et dans US 2007/0036745, qui conduit à un gel cohésif à partir d'un polymère d'hyaluronane réticulé avec du divinylsulfone (DVS).

5 Toutefois, l'ensemble de ces procédés ne donne pas totale satisfaction.

Comme il ressort de ce qui précède, la réticulation impose au préalable de disposer d'une solution homogène du polymère de départ.

Or, la mise en solution par dissolution d'un polymère, à l'image de l'acide hyaluronique, nécessite d'être effectuée sous agitation douce, afin de préserver au mieux l'intégrité et la taille initiale des chaînes polymériques, de l'ordre de plusieurs millions de Daltons dans le cas de l'acide hyaluronique. Pour satisfaire à cette contrainte, cette étape d'homogénéisation est classiquement réalisée sous agitation mécanique très réduite et donc
10 nécessite d'être prolongée dans le temps, par exemple jusqu'à 12 heures ce qui, à l'échelle industrielle, s'avère préjudiciable.

15 Pour ce qui est de la réticulation, qui conditionne les qualités de l'hydrogel réticulé final, il importe également qu'elle soit uniforme au niveau du gel.

Or, les procédés actuels ne permettent pas de conférer à un gel un taux de réticulation identique en tout point. En effet, ces procédés requièrent généralement de formuler le polymère au sein d'un réceptacle, tels que des pots ou cuves (batch) qui ne
20 permettent pas une diffusion uniforme des conditions environnementales nécessaires au déroulement de la réticulation ou même à son arrêt, notamment dans le cas d'une réticulation statique. Il en résulte des gels réticulés pouvant présenter une relative disparité en termes de degré de réticulation, cette uniformité affectant bien entendu leurs qualités.

Enfin, au regard de l'usage auquel sont destinés ces gels, il importe de leurs
25 garantir des qualités sanitaires irréprochables. Cette innocuité pourrait notamment être renforcée en minimisant considérablement les contacts des différents milieux requis dans ces procédés avec l'environnement extérieur.

La présente invention vise précisément à proposer un procédé permettant de répondre favorablement aux contraintes mentionnées ci-dessus.

30 Ainsi, les inventeurs ont découvert qu'il est possible non seulement d'améliorer l'homogénéisation du polymère avant réticulation mais également d'améliorer le bon déroulement du processus de réticulation, sous réserve de mettre en œuvre

l'ensemble des étapes nécessaires à sa transformation en gel réticulé au sein d'une cavité hermétique spécifique.

Ainsi, la présente invention concerne, selon un premier de ses aspects, un procédé de préparation d'un gel réticulé d'au moins un polymère ou un de ses sels, comprenant au moins les étapes consistant à :

- a) disposer d'un milieu aqueux contenant ledit polymère,
- b) former un gel homogène à partir du milieu de l'étape a),
- c) mettre au contact le gel obtenu en étape b) avec une quantité efficace d'au moins un agent réticulant,
- d) réticuler ledit mélange formé en étape c), et
- e) récupérer ledit hydrogel réticulé,

caractérisé en ce qu'au moins lesdites étapes a) à d) sont réalisées au sein d'une cavité hermétique délimitée au moins partiellement par une paroi déformable, ledit mélange présent dans la cavité étant exposé en étape d) à des conditions propices à la réticulation.

- 15 Selon un mode de réalisation particulier, le procédé comprend en outre une étape f) d'arrêt de la réticulation consistant à exposer le gel réticulé à des conditions propices à l'arrêt de sa réticulation, cette étape pouvant être réalisée antérieurement, conjointement ou postérieurement à l'étape de récupération e).

- 20 Selon une variante de réalisation préférée, l'étape f) est réalisée antérieurement à l'étape e).

Selon ce mode de réalisation avantageux, l'ensemble des étapes a) à d) et f) est alors réalisé au sein de ladite cavité. La réticulation est stoppée en exposant le gel présent dans la cavité hermétique à des conditions propices à l'arrêt de celle-ci.

- 25 Selon un mode de réalisation privilégié, le réceptacle dans lequel est ménagée la cavité peut être muni d'un moyen de fermeture, d'une part propice à l'incorporation des réactifs et, d'autre part, adapté pour garantir une totale herméticité lors des étapes b) à d), voire a) et f).

Toutefois, cette herméticité peut être également obtenue *via* l'ajustement du réceptacle au sein de l'appareillage retenu pour assurer l'homogénéisation de l'étape b).

- 30 Selon un mode de réalisation particulier, l'étape a) dudit procédé est caractérisée par le fait que la cavité contient initialement le polymère ou un de ses sels, ledit milieu aqueux étant introduit consécutivement ou inversement.

Selon une variante de réalisation préférée, ladite cavité est ménagée au sein d'une poche déformable.

Plus particulièrement, le polymère est un polysaccharide, l'acide hyaluronique ou l'un de ses sels.

5 Avantageusement, le gel de polymère obtenu est un gel monophasique et plus particulièrement un gel solide, c'est-à-dire dénué de la faculté de s'écouler sous son propre poids, à l'image par exemple d'une gomme.

 Contre toute attente et comme il ressort des essais présentés ci-après, le fait de réaliser l'homogénéisation et la réticulation dans une cavité telle que définie ci-dessus, et
10 plus particulièrement une poche déformable, permet d'accéder à une qualité d'hydrogel non accessible au moyen d'un procédé classique, c'est-à-dire dans lequel l'ensemble des opérations sont réalisées au sein d'un réceptacle ouvert et solide, c'est à dire non hermétique et non déformable.

 Les propriétés de déformabilité du réceptacle considéré selon l'invention et son
15 caractère hermétique permettent, semble-t-il, de réaliser les étapes d'homogénéisation et de réticulation dans des conditions optimales qui conduisent à l'obtention d'un gel réticulé possédant des propriétés d'injectabilité supérieures à celles manifestées par un gel obtenu selon un procédé conventionnel. Les propriétés d'injectabilité considérées selon l'invention sont celles manifestées par le gel réticulé, récupéré à l'arrêt de la réticulation, c'est-à-dire
20 sans traitement complémentaire.

 Ainsi, le procédé selon l'invention rend possible une agitation selon l'étape a) par déformation de la paroi ou de l'ensemble des parois déformables délimitant la cavité, voire du réceptacle lorsqu'il s'agit d'une poche, contenant ledit gel.

 Les avantages de cette technique se caractérisent par une homogénéisation
25 douce, optimisée, rapide et sans risque de contamination du produit.

 En ce qui concerne la réaction de réticulation, elle peut également être réalisée dans des conditions optimales, au regard, d'une part, de la bonne homogénéité du gel obtenu à l'issue de l'étape b) et, d'autre part, de la nature du réceptacle contenant ledit gel. Avantageusement, ce réceptacle hermétique peut être directement exposé dans son
30 intégralité aux conditions retenues pour la réticulation.

 Par exemple, dans le cas d'une réticulation par voie thermique, celle-ci peut avantageusement être effectuée en immergeant directement le réceptacle, par exemple la

poche, dans un bain thermostaté à une température propice à cette réticulation, permettant ainsi d'assurer une excellente conduction de la chaleur et un gradient de température homogène sur tout le volume du gel.

Le procédé selon l'invention s'avère également particulièrement avantageux sur le plan de l'innocuité dans la mesure où il minimise efficacement les contacts du gel non réticulé puis réticulé avec l'atmosphère.

Enfin, un autre avantage substantiel sur le plan industriel du procédé selon l'invention réside dans sa compatibilité avec une mise en œuvre de l'étape de réticulation sur une quantité substantiellement plus importante de matière que celle envisageable avec les procédés actuels.

I) Réceptacle

Comme précisé ci-dessus, le procédé selon l'invention met en œuvre un réceptacle hermétique dans lequel est ménagée une cavité délimitée au moins partiellement par une paroi déformable.

En figure 1, ci-après, sont représentés différents modes de réalisation d'un tel réceptacle.

Par exemple, la figure 1b représente un mode de réalisation muni d'une unique paroi déformable disposée en surface d'un cadre ménageant une cavité hermétique.

Avantageusement, l'ensemble des parois délimitant la cavité sont déformables.

Une poche, à l'image de celles illustrées en figures 1a, 1c, 1d et 1e, est notamment représentative de ce mode de réalisation.

Tout d'abord, la paroi déformable, voire la poche, présente des propriétés mécaniques qui sont ajustées pour résister aux contraintes exercées, notamment en interne, lors de l'homogénéisation, et lors de la manipulation du réceptacle, pour prévenir tout risque de déchirure.

Comme précisé ci-dessus, la paroi déformable ou la poche présente un degré de déformabilité tel que cette dernière peut être déformée manuellement, c'est-à-dire sous l'effet d'une pression résultant par exemple d'une simple palpation.

Comme précisé ci-après, cette pression peut également être appliquée mécaniquement.

Le degré de déformabilité de la paroi déformable peut être tel que, selon un mode de réalisation particulier, il autorise le contact, notamment lorsque la cavité est vide, de la paroi déformable avec la face qui lui est opposée.

De plus, ladite paroi, voire ladite poche, étant susceptible d'être soumise à des conditions de température spécifique, notamment au regard de l'étape de réticulation, présente des propriétés de résistance à d'importantes variations de température, par exemple de 0 à 140 °C.

Le réceptacle, voire la poche, selon un aspect pratique mais également dans l'idée de limiter au maximum les contacts avec l'environnement extérieur, présente un caractère hermétique.

Le réceptacle considéré selon l'invention peut toutefois être avantageusement muni d'un système ou port d'ouverture, refermable, propice à l'introduction de tout composé utile à la fabrication d'un gel conforme à l'invention.

De tels systèmes d'ouverture sont notamment illustrés en figures 1c et 1d.

Ce système peut, par exemple, être propice à l'introduction, *via* une aiguille par exemple, de composants annexes au sein de ladite cavité (figure 1d).

Ainsi, la cavité peut contenir initialement le polymère et le milieu aqueux y est introduit ultérieurement, *via* un tel système d'ouverture.

Peut notamment être envisagé un système ou port d'ouverture similaire à celui décrit dans le document EP 0 812 158.

Selon une autre alternative, lorsque le réceptacle est une poche, le système de fermeture peut se représenter sous la forme d'au moins une languette disposée en extrémité supérieure de la poche et sur toute la longueur du revers de celle-ci, les extrémités latérales de ladite languette pouvant se replier en périphérie (figure 1e).

Selon encore une autre alternative, le système de fermeture de ladite poche se présente sous la forme d'un zip, semblable à ceux que l'on peut trouver sur certains sacs alimentaires (figure 1c).

Avantageusement, la membrane ou les membranes déformables constitutive(s) dudit réceptacle possède(nt) une épaisseur comprise entre 10 µm et 1 mm, de préférence entre 40 µm et 0,3 mm.

Le volume de ladite cavité est également adapté à la quantité totale de composés utiles à la fabrication d'un hydrogel conforme à l'invention.

Selon un mode de réalisation particulier, la cavité possède un volume tel que ledit milieu considéré en étape a) en remplit au moins les 1/10, de préférence au moins les 1/5.

La cavité considérée selon l'invention présente de préférence un volume de l'ordre de 50 à 10 000 cm³, de préférence de 200 à 4000 cm³.

Ladite cavité peut avantageusement présenter une forme régulière, par exemple carré ou rectangulaire ou encore de type berlingot, comme celles présentées en figure 1.

Le réceptacle considéré selon l'invention peut se prêter avantageusement à une conservation du milieu qu'il contient sous une atmosphère inerte, voire sous vide.

Avantageusement, ce réceptacle est réalisé en un matériau inerte vis-à-vis des différents composés utiles à la fabrication d'un hydrogel conforme à l'invention.

La paroi déformable ou la poche est, de plus, réalisée en un matériau qui permet de donner satisfaction quant aux caractéristiques mécaniques décrites ci-dessus. Ce matériau peut notamment être choisi parmi les polymères plastiques, à l'image notamment du polyéthylène de grade pharmaceutique pour une utilisation en industrie pharmaceutique ou biomédicale.

Au regard de la destination des produits issus d'un procédé selon l'invention, le réceptacle est avantageusement stérile. Pour parfaire à cette exigence, ce dernier, avant utilisation, peut également être conditionné dans un emballage stérile.

Pour faciliter la mise en œuvre d'un procédé conforme à l'invention, au moins un des éléments du réceptacle est de préférence transparent ou dans un matériau suffisamment limpide pour pouvoir observer les changements opérés en interne.

Comme précisé ci-dessus, selon une variante préférée, le réceptacle est une poche.

Un mode de réalisation spécifique de cette variante préférée peut consister en une poche à double face présentant, de préférence le long d'une de ses extrémités, un moyen de fermeture de type pas de vis sur lequel peut être vissé un bouchon (figure 1d) ou encore un moyen de fermeture de type glissière (figure 1c).

Selon un autre mode de réalisation particulier, la poche est monocompartimentée.

Ainsi, une variante consiste à disposer d'une poche pouvant être vide ou comprenant au préalable :

- soit au moins un milieu aqueux ou au moins le polymère ou sel de polymère à réticuler ;
- 5 - soit au moins un milieu aqueux comprenant, d'ores et déjà, ledit polymère ou sel de polymère à réticuler.

Selon encore un autre mode de réalisation particulier, la poche est polycompartimentée, et plus particulièrement bicompartimentée.

10 Ainsi, la poche peut présenter au moins deux compartiments isolés l'un de l'autre par une membrane étanche mais suffisamment fragile pour se déchirer sous l'action d'une compression, chaque compartiment étant destiné à stocker au moins un composé utile à la fabrication d'un gel conforme à l'invention.

15 Selon une première alternative, le premier compartiment comprend au moins un milieu aqueux, et le deuxième compartiment comprend au moins un polymère ou sel de polymère.

Selon une seconde alternative, le premier compartiment comprend au moins un mélange d'au moins un milieu aqueux en association avec au moins un polymère ou sel de polymère, et le deuxième compartiment comprend au moins un agent réticulant.

20 Selon encore un troisième mode de réalisation particulier, la poche est tricompartimentée, chaque compartiment pouvant être dédié respectivement au conditionnement du polymère à réticuler, du milieu aqueux et de l'agent réticulant.

Ces deux derniers modes de réalisation ne sont toutefois pas privilégiés, au regard du défaut de stabilité de certains agents réticulants.

25 Les modes de réalisation décrits ci-dessus permettent de s'affranchir de toute étape nécessitant un contact du gel avec l'environnement extérieur, réduisant par conséquent significativement les risques de contamination.

II) Procédé

30 Un procédé selon l'invention requiert, dans un premier temps, de disposer d'une cavité comprenant au moins un milieu aqueux avec au moins un polymère ou sels de polymère.

Cela se rapporte plus particulièrement à l'étape a).

Selon une alternative, la cavité selon l'invention peut ne contenir qu'un des deux composés, le second y étant alors introduit ultérieurement.

Dans le mode de réalisation où le réceptacle est une poche bicompartimentée dans laquelle les différents composés peuvent avantageusement être isolés l'un de l'autre au sein de compartiments respectifs, l'étape a) implique alors de réaliser au préalable une rupture de la membrane séparant ces deux compartiments, par exemple au moyen d'une simple pression.

1) Homogénéisation

Selon l'invention, le réceptacle considéré selon l'invention permet une homogénéisation améliorée des composés utiles à la formation d'un hydrogel conforme à l'invention.

Par « améliorée », on entend au sens de l'invention une qualité d'homogénéisation supérieure à celle observée avec les procédés classiques, mais également un temps d'homogénéisation réduit.

L'homogénéisation a plus particulièrement pour but de dissoudre parfaitement le polymère dans le milieu aqueux et d'agencer la formation des chaînes dudit polymère de manière à activer ce dernier en prévision de la réticulation.

L'homogénéisation est considérée comme satisfaisante lorsque la solution obtenue présente une coloration homogène, sans agglomérat, et une viscosité uniforme.

Comme spécifié précédemment, l'homogénéisation doit être suffisamment douce pour limiter la dégradation des chaînes du polymère.

Cette étape est d'autant plus importante lorsque le polymère présente un haut poids moléculaire. L'hydratation d'un tel composé a alors en effet tendance à engendrer la formation d'une solution de haute viscosité au sein de laquelle l'apparition de grumeaux est couramment observée.

Selon un mode de réalisation particulier, la paroi déformable, voire la poche présente un degré de déformabilité tel que l'homogénéisation, considérée en étape b), peut être réalisée par déformations mécaniques, éventuellement successives, de la face externe de la paroi déformable, voire de la poche.

Les déformations considérées dans la présente demande peuvent être réalisées à l'aide de tout moyen connu de l'homme du métier. L'homogénéisation peut être réalisée

manuellement, notamment par simples compressions manuelles successives des faces externes de la paroi ou de ladite poche, par exemple par palpations.

Selon une autre alternative, les déformations peuvent être réalisées mécaniquement, au moyen par exemple d'un appareil de type « broyeur à palettes »,
5 couramment utilisé pour la préparation d'échantillons biologiques.

Selon un tel mode de réalisation, le réceptacle est placé dans l'appareil, puis l'homogénéisation est assurée grâce à un système de deux pâles côte à côte qui viennent presser alternativement la paroi ou au moins une des parois déformable(s), selon un mouvement de va et vient.

10 Selon un autre mode de réalisation, le réceptacle peut être placé sur un tapis roulant exerçant un mouvement de va et vient, à proximité duquel est disposé au moins un rouleau, ledit rouleau étant placé à une distance telle qu'il exerce une compression sur la paroi ou au moins une des parois déformable(s) lors de son passage et engendre ainsi une déformation de cette dernière propice à l'homogénéisation.

15 Selon encore un autre mode de réalisation, une poche conforme à l'invention peut être exposée à un mouvement de va et vient entre deux rouleaux diamétralement opposés, chacun d'entre eux exerçant, lors du passage de ladite poche, une compression sur chacune des faces externes de la poche.

Un temps d'homogénéisation satisfaisant dépend de la nature du polymère, et
20 plus particulièrement de son poids moléculaire, de sa concentration, des conditions opératoires au sein du milieu aqueux ainsi que du dispositif d'homogénéisation utilisés.

Les temps d'homogénéisation permettant d'obtenir un hydrogel suffisamment homogène relèvent des connaissances générales de l'homme du métier.

De préférence, le procédé selon l'invention autorise un temps
25 d'homogénéisation inférieur à 400 minutes, en particulier inférieur à 150 minutes, voire compris entre 30 et 100 minutes.

Tant que la dissolution du polymère ou mélange de polymère dans le solvant aqueux n'est pas complètement satisfaisante, il est appliqué autant de cycles d'agitation que nécessaire.

30 Par exemple, la durée d'homogénéisation nécessaire pour obtenir un gel satisfaisant, à partir d'hyaluronate de sodium de masse moléculaire supérieure à 0,5 MDa et d'un broyeur à palettes, est d'environ 40 à 120 minutes.

Selon un mode particulier, l'homogénéisation peut être réalisée en premier lieu par palpation, puis à l'aide d'un dispositif mécanique.

Selon encore un autre mode de réalisation, ces différents moyens d'homogénéisation peuvent être mis en œuvre alternativement.

5

2) Réticulation

Comme cité précédemment, une telle étape requiert des conditions particulières qui dépendent à la fois de la nature du polymère, de son poids moléculaire, du milieu aqueux et de la nature de l'agent réticulant.

10 Par « conditions », on entend également désigner l'élément déclenchant la réticulation tel que par exemple le chauffage, ou l'exposition sous UV.

Le choix du moyen déclenchant approprié pour l'obtention d'un gel réticulé relève des connaissances générales de l'homme du métier.

15 De manière avantageuse, un élément déclenchant de type « chauffage » peut être réalisé par :

- immersion du réceptacle, voire de la poche dans un bain contenant un fluide chaud ;

- exposition de celui-ci à des rayonnements de certaines longueurs d'ondes de type UV, par exemple, à des rayonnements micro-ondes ou encore à infrarouge ;

20 Dans le cas d'une réticulation par voie thermique, le réceptacle considéré selon l'invention, et plus particulièrement la poche, permet de garder une même température en tout point du gel qu'il contient. Il s'en suit une réticulation optimisée en terme d'homogénéité.

25 Le moyen de chauffage et son intensité sont bien évidemment ajustés au regard du mode de réticulation, du degré de réticulation et de la viscosité du gel recherchés.

Une température particulièrement adaptée à l'étape de réticulation d'acide hyaluronique en présence d'un agent réticulant tel que la BDDE est comprise entre 40 et 65 °C.

30 Toutefois, d'autres modes sont également avantageusement compatibles avec le réceptacle considéré selon l'invention, tels que :

- l'irradiation au moyen de rayons ionisants, à l'image du procédé décrit dans le document US 2008/0139796 ;

- la réticulation enzymatique ;

Le degré de réticulation dépend également de la durée de réticulation imposée aux gels. Plus le temps sera long, plus il sera important, avec toutefois un optimum à ne pas dépasser, sous risque de dégrader l'agent réticulant et/ou le polymère.

5 Ainsi, l'étape de réticulation peut être réalisée sur une durée allant de 30 à 300 minutes, préférentiellement de 100 à 200 minutes.

Avantageusement, les conditions de réticulation sont ajustées pour obtenir un degré de réticulation tel que le gel formé soit un gel visqueux, viscoélastique, voire même solide.

10 Selon un mode de réalisation particulièrement préféré, l'étape de réticulation de hyaluronate de sodium, est réalisée en milieu basique, la poche contenant le gel correspondant étant placée dans un bain thermostaté porté à une température de l'ordre de 50 à 55 °C, pendant une durée de 2 à 4 heures.

15 Afin de répartir de façon homogène l'agent réticulant au sein de la solution visqueuse d'acide hyaluronique, une étape d'homogénéisation consécutive à l'ajout dudit agent dans la poche peut être envisagée. Une telle opération peut s'opérer par palpations et/ou agitation mécanique dans le cas d'une poche ou par tout autre moyen approprié, sur une durée allant de 15 à 20 minutes.

20 3) Arrêt de la réticulation

Comme exposé précédemment, l'arrêt de la réticulation (étape f)) peut intervenir antérieurement, conjointement ou postérieurement à l'étape de récupération du gel e).

25 Une telle étape, selon un procédé conforme à l'invention, requiert d'exposer le gel réticulé ou en cours de réticulation, voire le réceptacle le contenant, à des conditions propices à l'arrêt de celle-ci, ou encore à des conditions capables de stopper la formation de liaisons entre les différentes chaînes de polymères.

30 Selon une variante de réalisation préférée, l'étape f) est réalisée antérieurement à l'étape e). Selon ce mode de réalisation avantageux, l'ensemble des étapes a) à f) est alors réalisé au sein de ladite cavité, et l'arrêt de la réticulation consiste alors à exposer le gel encore présent dans la cavité hermétique à des conditions propices à celui-ci.

Par exemple, au regard des conditions thermiques qui auront été appliquées pour initier le processus de réticulation, l'arrêt de la réticulation peut être réalisé :

- par simple retrait du réceptacle du bain thermostaté, puis par refroidissement jusqu'à un retour à température ambiante;
- 5 - en plaçant le réceptacle dans un bain d'eau froide, de préférence à une température inférieure à la température ambiante, jusqu'à ce que la température à l'intérieur dudit réceptacle soit proche de la température ambiante ; voire
- en extrayant le gel dudit réceptacle.

10 Dans le cas d'une réticulation par rayonnement, celle-ci est stoppée *via* l'arrêt de l'exposition dudit gel aux rayonnements.

Le gel réticulé ainsi obtenu peut, par exemple, être démoulé dudit réceptacle, par exemple par simple ouverture du réceptacle ou encore par lacération de la ou de l'une de ses paroi(s) déformable(s).

15 Le réceptacle peut également être muni d'un système d'ouverture permettant d'extraire, voire de démouler le gel réticulé dans son intégralité sans altérer sa structure.

Le gel réticulé obtenu à l'issue du procédé tel que décrit précédemment n'est généralement pas directement injectable, au regard notamment de sa trop forte concentration en polymère et de la présence éventuelle de résidus d'agents réticulant, ou encore de ses conditions physiologiques ou de pH.

20 Toutefois, après un simple gonflement en milieu aqueux, ce gel obtenu possède d'ores et déjà un profil d'injectabilité amélioré au regard de celui possédé par des gels conventionnels, comme illustré par les figures 5, 6 et 7.

25 Le gel obtenu à l'issue de la mise en œuvre du procédé tel que décrit précédemment peut notamment présenter une rigidité trop élevée pour être injecté chez un patient en l'état.

Par conséquent, plusieurs étapes additionnelles, connues de l'homme du métier, sont susceptibles d'être mis en œuvre.

30 Plus particulièrement, une étape de neutralisation et d'expansion de ce gel est requise pour lui conférer ses qualités d'implant. Les chaînes du réseau de polymère sont alors étirées, hydratées, tandis que le pH est ramené à celui du derme.

Une étape de protection et de redensification du gel est également susceptible d'être réalisée afin d'améliorer encore les qualités de l'implant, selon le savoir-faire de

l'homme de l'art. Le gel doit être formulé physiologiquement grâce à la présence de sels en quantités équivalentes à celles du milieu injecté.

Pour une pureté encore améliorée, une étape de purification complémentaire peut être, en outre, réalisée.

- 5 L'ultime étape consiste au remplissage du gel en seringue qui est réalisé dans des conditions d'atmosphère contrôlée, puis d'une stérilisation finale thermique qui intervient immédiatement après le remplissage en seringue.

III) Polymère

- 10 Par « polymère » conforme à l'invention, on entend toute macromolécule constituée de l'enchaînement répété d'un même motif ou de motifs différents, reliés les uns aux autres par des liaisons covalentes.

Un polymère est plus particulièrement sélectionné au regard des propriétés que l'on souhaite voir manifester par le gel réticulé obtenu selon l'invention. Plus
15 particulièrement, un tel polymère doit présenter une bonne biocompatibilité.

Ainsi, un polymère ou sel de polymère physiologiquement acceptable peut être d'origine naturelle ou synthétique.

Les polymères convenant à l'invention peuvent notamment être choisis parmi les glycosaminoglycanes tels que le sulfate de chondroïtine, le kératane, le sulfate de
20 kératane, l'héparine, le sulfane d'héparine, le xanthane, la carraghénine, les polysaccharides tels que l'acide hyaluronique, le chitosane, la cellulose et ses dérivés, l'alginate, l'amidon, le dextrane, le pullulane, le galactomannane et leurs sels biologiquement acceptables, une protéine ou un polymère synthétique tel que l'acide polyacrylique ou l'alcool polyvinyle.

- 25 Les sels de polysaccharides conformes à l'invention sont plus particulièrement choisis parmi les sels physiologiquement acceptables, tels que le sel de sodium, le sel de potassium et leur mélange, de préférence le sel de sodium.

Un polysaccharide particulièrement préféré est l'acide hyaluronique ou l'un de ses sels, de préférence le hyaluronate de sodium (NaHA).

- 30 De préférence, un polymère ou sel de polymère selon l'invention présente un haut poids moléculaire, de préférence un poids moléculaire supérieur ou égal à 100 000 Da, voire même supérieur à 3 MDa selon l'application considérée.

Ce polymère est formulé en étape a) du procédé selon l'invention dans un milieu aqueux.

Par « milieu aqueux » conforme à l'invention, on entend tout milieu liquide qui a la propriété de dissoudre un polymère, et plus spécifiquement, un polysaccharide ou un
5 de ses sels.

La nature du milieu aqueux est plus particulièrement conditionnée au regard du type de réticulation envisagée mais également du type de polymère utilisé.

A ce titre, un milieu aqueux susceptible de convenir peut être soit acide, soit
basique.

10 Un milieu aqueux particulièrement préféré est un milieu alcalin, de préférence l'hydroxyde de sodium (NaOH), plus particulièrement une solution d'hydroxyde de sodium à pH supérieur à 12.

IV) Agent réticulant

15 Par « agent réticulant » conforme à l'invention, on entend tout composé capable d'induire une réticulation entre les différentes chaînes de polymères.

Le choix de cet agent réticulant au regard du polymère à réticuler relève clairement des compétences de l'homme de l'art.

Un agent réticulant conforme à l'invention est choisi parmi l'époxyde, l'aldéhyde, le polyaziridyl ou divinyl sulphone (DVS), le butanediol diglycidyl éther
20 (BDDE), de préférence le butanediol diglycidyl éther, ce dernier présentant la plus faible toxicité parmi les agents réticulant courant.

L'agent réticulant, de nature changeante et très souvent instable, est, au sein d'un réceptacle conforme à l'invention, conservé dans un environnement protecteur
25 garantissant ainsi le bon déroulement de l'étape de réticulation ultérieure.

Le procédé selon l'invention garantit en outre une diffusion rapide, totale et uniforme de l'agent réticulant à travers le réseau de chaînes de polymères.

Il s'en suit une amélioration substantielle de la qualité et du rendement de la réticulation, ainsi qu'une diminution non négligeable de la quantité en agent réticulant
30 requise par rapport aux procédés conventionnels.

L'ajustement de la quantité en agent réticulant pour la réalisation de la réaction de réticulation relève également clairement des compétences de l'homme du métier.

Selon un mode de réalisation particulièrement préféré, le procédé selon l'invention met en œuvre du hyaluronate de sodium en un milieu alcalin avec le butanediol diglycidyl éther à titre d'agent réticulant.

Les exemples et figures qui suivent sont présentés à titre illustratif et non limitatif de l'invention.

Figures :

- Figure 1 : illustre des représentations schématiques de réceptacles conformes à l'invention.
- Figures 2, 3 et 4 : illustrent respectivement l'évolution de la température lors de la réaction de réticulation des échantillons 1, 2 et 3.
- Figures 5 à 7 : illustrent le profil d'injectabilité des échantillons 1, 2 et 3.

Les études comparatives ci-dessous sont menées sur trois échantillons de gels réticulés d'acide hyaluronique illustrant soit un procédé conforme à l'invention (échantillon 1), soit un procédé classique (échantillons 2 et 3).

- Echantillon 1 : procédé réalisé en poche stérile de 400 ml, agitation au broyeur à palette, réticulation 3 heures à 52 °C,
- Echantillon 2 : procédé réalisé en pot plastique stérile 400 ml, agitation à la spatule ; réticulation 3 heures à 52 °C,
- Echantillon 3 : procédé réalisé en pot plastique stérile 400 ml, agitation à la spatule, réticulation 3 heures à 55,5 °C.

Exemple 1 : Préparation du gel homogène d'acide hyaluronique

Pour chacun des échantillons, 10 g de NaHA sont dissous dans une solution de soude à 1 % de façon à obtenir une solution à 12 % en NaHA.

La poche (volume utile : 400 mL, longueur : 310 mm, largeur 180 mm, PE grade alimentaire) dans laquelle est dissous l'échantillon 1, est exposée à une homogénéisation mécanique. Pour se faire, la poche est exposée à des cycles d'agitation successifs pendant une durée globale de 1 heure à 210 tr.minutes⁻¹ (22 rad.s⁻¹) au broyeur à palettes.

Pour les échantillons 2 et 3, l'agitation est manuelle via une spatule stérile en inox pendant 5 à 10 minutes, suivie d'un nouveau cycle d'agitation manuelle toutes les 30 minutes jusqu'à hydratation totale.

La dissolution du NaHA est considérée totale une fois l'intégralité du NaHA hydraté et la solution parfaitement homogène (absence d'agglomérat et couleur uniforme). Dans le cas où la dissolution n'apparaît pas totale, un cycle d'agitation supplémentaire peut être lancé.

Les durées totales de dissolution du NaHA dans la solution de soude à 1 % pour les 3 échantillons sont indiquées dans le tableau 1 suivant.

10

Tableau 1 : Durée totale de dissolution

	Echantillon 1 (poche)	Echantillon 2 (pot)	Echantillon 3 (pot)
Durée totale de dissolution (minutes)	60	114	106

L'homogénéisation de l'acide hyaluronique en poche est plus rapide que l'homogénéisation en pot avec une spatule sans nécessaire élévation de la température, à l'image de l'échantillon 3. Cette alternative est également plus propre car le gel n'est pas en contact avec l'extérieur et il n'y a pas de frottement direct sur le milieu réactionnel qui pourrait engendrer des particules.

Exemple 2 : Réticulation

Une solution de BDDE diluée au 1/5^{ème} dans une solution de soude à 1 % est ajoutée pour chacun des échantillons obtenus en exemple 1 à la solution de NaHA homogène obtenue à l'issue de l'étape précédente.

L'homogénéisation du milieu réactionnel de l'échantillon 1 est ensuite effectuée grâce à des cycles d'agitations successifs comprenant chacun :

- 5 à 10 minutes d'agitation manuelle par malaxage de la poche, et
- 5 minutes d'agitation au broyeur à palettes à 210 tr.minutes⁻¹ (22 rad.s⁻¹).

L'homogénéisation des milieux réactionnels des échantillons 2 et 3 est effectuée par agitation avec une spatule stérile en inox pendant 15 minutes.

Trois sondes de température sont ensemble placées dans chacun des produits à réticuler (deux en périphérie et diamétralement opposées, et une au milieu) afin de pouvoir relever les températures au sein du milieu réactionnel au cours de la réaction de réticulation.

Pour l'échantillon 1, la poche fermée est placée au bain-marie à 52 °C pendant 3 heures en veillant à ce que l'ouverture de la poche reste à l'extérieur du bain.

Pour les échantillons 2 et 3, les pots sont placés au bain-marie pendant 3 heures, respectivement à 52 °C et à 55,5 °C.

La température au sein du milieu réactionnel a été suivie tout au long de la réaction de réticulation grâce à trois sondes de température.

Les Figures 1 à 3 représentent les profils de température observés lors des réactions de réticulation des 3 échantillons.

Les chiffres 1 à 3 sur chaque profil correspondent aux trois sondes de température qui ont été placées dans la poche ou dans les pots afin de suivre l'évolution de la température au sein du milieu réactionnel.

Pour l'échantillon 1, on observe une montée quasi-immédiate de la température au sein de la poche puis un maintien uniforme de la température du milieu réactionnel autour de 52 °C quelque soit la sonde de température. La température est donc uniforme dans l'ensemble du milieu réactionnel.

Pour les échantillons 2 et 3, on observe en revanche une montée plus lente en température que pour le procédé en poche puis des différences marquées entre les températures mesurées par les trois différentes sondes autour de 52 °C (échantillon 2) ou 55,5 °C (échantillon 3). La température n'est donc pas uniforme dans l'ensemble du milieu réactionnel.

Une fois la réaction de réticulation terminée, la poche et les pots sont retirés du bain thermostaté et placés dans un récipient contenant de l'eau stérile réfrigérée jusqu'à ce que la température ait refroidi à 25 °C (température ambiante).

Le rendement est défini en rapportant la masse de produit obtenu à la masse de réactifs de départ.

Tableau 2 : Rendements massiques des réactions de réticulation

	Echantillon 1 (poche)	Echantillon 2 (pot)	Echantillon 3 (pot)
Rendement (%)	99,6	94,5	94,6

On observe que le rendement de la réaction de réticulation effectuée dans une poche est meilleur que celui de la réaction effectuée en pot, même en présence d'une élévation de température.

Exemple 3 : Caractérisation des gels obtenus en exemple 2

1) Protocole

Les 3 échantillons de gels réticulés obtenus dans l'exemple 2 sont fractionnés en petits cubes d'environ 1 cm³.

Pour chaque gel obtenu, les morceaux sont introduits dans un pot rigide plastique 1L stérile contenant la quantité adéquate de Tampon Phosphate (TP) stérile apyrogène pour amener le gel à une concentration de 20 mg/g. La quantité de solution TP est ajustée de manière à obtenir un gel à 20 mg/m en HA. La quantité d'acide chlorhydrique est ajustée de manière à neutraliser le pH. Le contenu du pot est agité pendant 5 minutes grâce à une spatule stérile en inox. Le pot est ensuite placé dans un agitateur tridimensionnel pendant 20 heures à température ambiante.

Les gels réticulés ainsi obtenus présentent un pH proche de la neutralité et une concentration physiologique en NaCl.

Pour chaque échantillon obtenu selon cette étape, une quantité donnée de produit est prélevée au moyen de cinq seringues en verre BD Hypack® 1mL afin d'effectuer des mesures de forces d'injectabilité (aiguille hypodermique 27G1/2) et de pH.

Les mesures de pH et de forces d'injectabilité sont présentées dans les tableaux ci-dessous (Tableau 3). Les seringues remplies de gel réticulé ont été soumises à une compression de 12,5 N.mm⁻¹ et les valeurs de mesure de forces d'injectabilité obtenues représentent une moyenne des mesures effectuées sur 3 seringues pour chaque gel réticulé.

Tableau 3 : Mesures de pH et de forces d'injectabilité

	Echantillon 1 (poche)	Echantillon 2 (pot)	Echantillon 3 (pot)
pH	7,3	7,2	6,9
Force d'injectabilité (N)	45,6	34,7	43
Ecart type (%)	5,6	5,2	16,7

Il a en outre été constaté par les inventeurs que les gels résultant du procédé en poche présentent une plus grande tolérance à la stérilisation, en terme de propriétés rhéologiques, que les gels obtenus par le procédé en pot.

En outre, il est constaté que le procédé utilisé pour la mise en œuvre de l'échantillon 1 permet d'obtenir un gel réticulé dont le taux résiduel en BDDE avant réticulation est nettement inférieur à celui relevé pour les échantillons 2 et 3, d'environ un facteur de 2.

REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation d'un gel réticulé d'au moins un polymère ou un de ses sels, comprenant au moins les étapes consistant à :

5 a) disposer d'un milieu aqueux contenant ledit polymère,
b) former un gel homogène à partir du milieu de l'étape a),
c) mettre au contact le gel obtenu en étape b) avec une quantité efficace d'au moins un agent réticulant,

d) réticuler ledit mélange formé en étape c), et

10 e) récupérer ledit hydrogel réticulé,
caractérisé en ce qu'au moins lesdites étapes a) à d) sont réalisées au sein d'une cavité hermétique délimitée au moins partiellement par une paroi déformable, le mélange présent dans la cavité étant exposé en étape d) à des conditions propices à la réticulation.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend en
15 outre une étape d'arrêt de la réticulation f), ladite étape f) étant réalisée antérieurement, conjointement ou postérieurement à l'étape de récupération e).

3. Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que l'étape de réticulation f) est réalisée antérieurement à l'étape de récupération e).

4. Procédé selon la revendication précédente, caractérisé en ce que
20 l'ensemble des étapes a) à d) et f) est réalisé au sein de ladite cavité.

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que ladite paroi déformable présente un degré de déformabilité tel qu'elle est déformable manuellement par palpation.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes,
25 caractérisé en ce que la cavité est ménagée au sein d'une poche déformable.

7. Procédé selon la revendication précédente, caractérisé en ce que ladite poche est munie d'un système d'ouverture.

8. Procédé selon la revendication 6 ou 7, caractérisé en ce que ladite poche est en matière plastique, de préférence en polyéthylène de grade pharmaceutique.

30 9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, caractérisé en ce que ladite poche est monocompartimentée.

10. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'homogénéisation est réalisée par déformations de la ou des paroi(s) déformable(s).

11. Procédé selon la revendication précédente, caractérisé en ce que les déformations sont réalisées manuellement.

12. Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce que les déformations sont réalisées mécaniquement.

5 13. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'homogénéisation se déroule sur une durée inférieure à 400 minutes, de préférence inférieure à 150 minutes, voire compris entre 30 à 100 minutes.

14. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'étape de réticulation est réalisée par voie thermique.

10 15. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la réticulation se déroule sur une durée allant de 30 à 300 minutes, de préférence de 100 à 200 minutes.

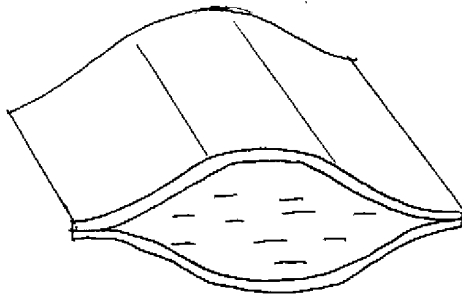
16. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la récupération du gel réticulé est réalisée par démoulage dudit gel.

15 17. Procédé selon une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le polymère est un polysaccharide, de préférence l'acide hyaluronique ou l'un de ses sels.

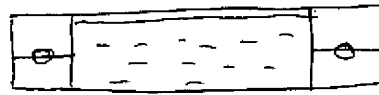
18. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il met en œuvre du hyaluronate de sodium en un milieu alcalin, et le
20 butanediol diglycidyl éther (BDDE), à titre d'agent réticulant.

19. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le gel réticulé est un gel solide.

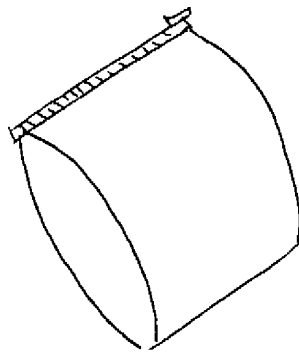
Figure 1



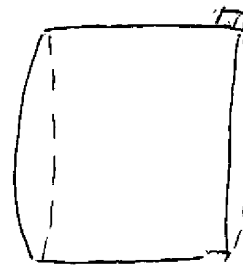
1a



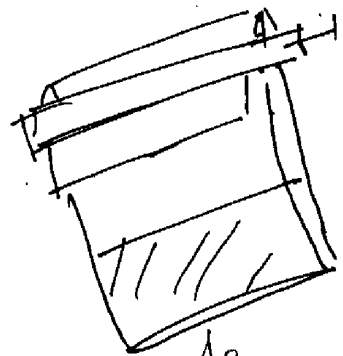
1b



1c



1d.



1e

Figure 2

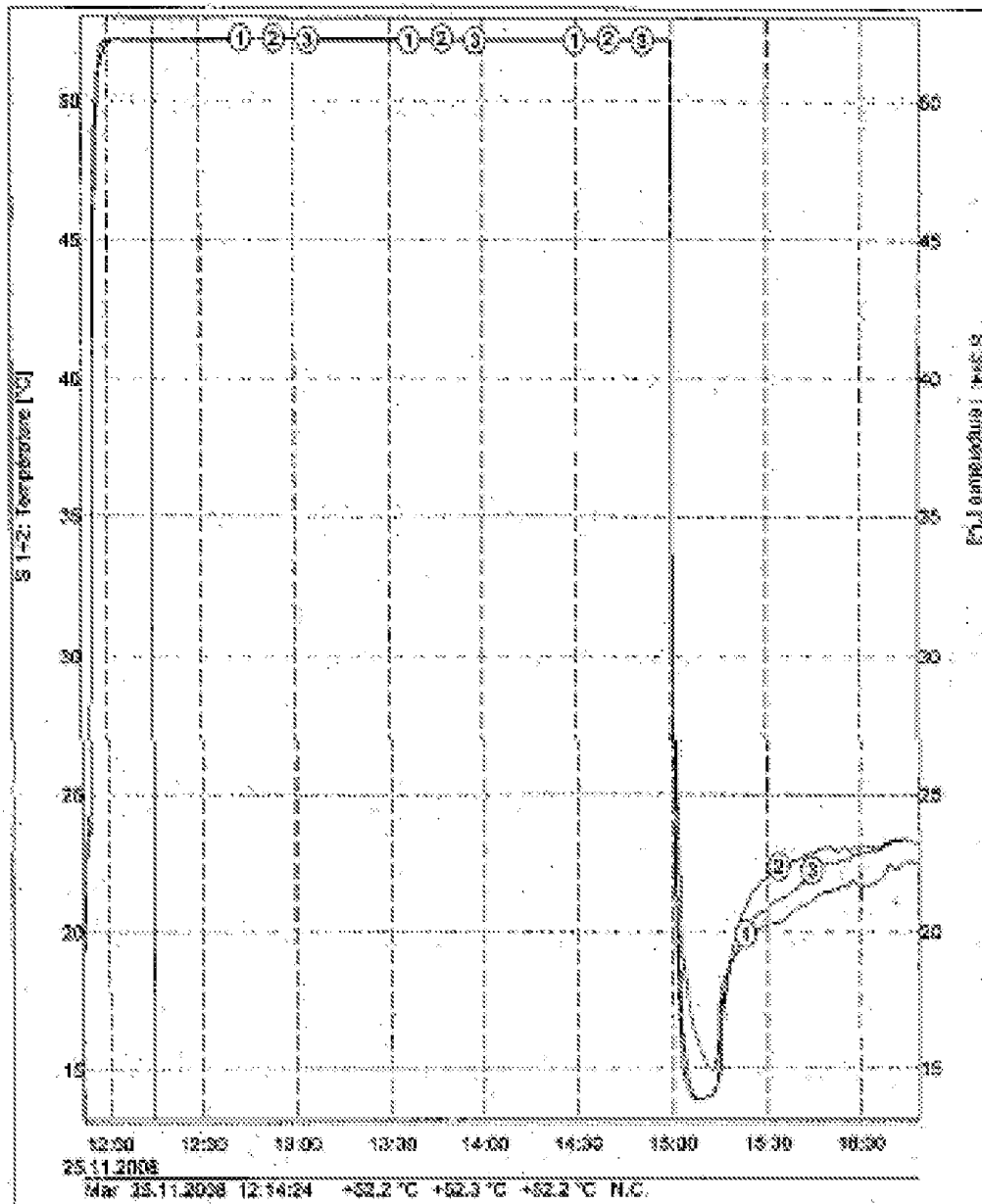


Figure 3

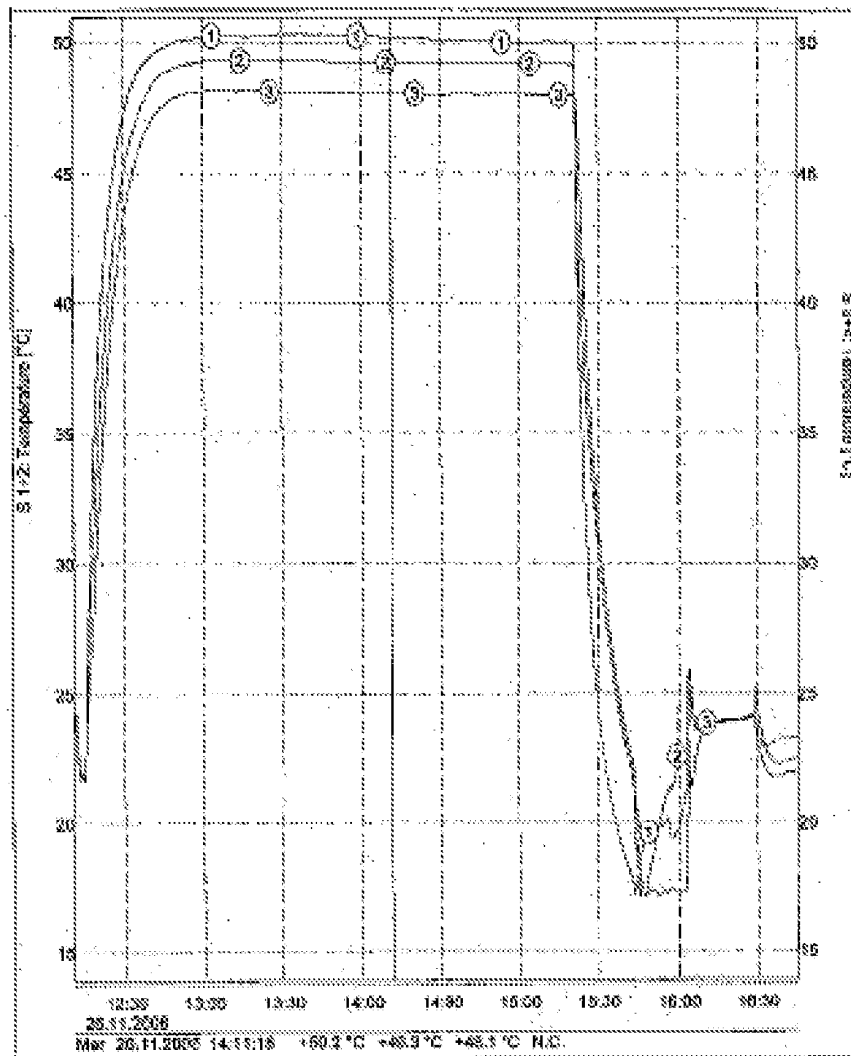


Figure 4

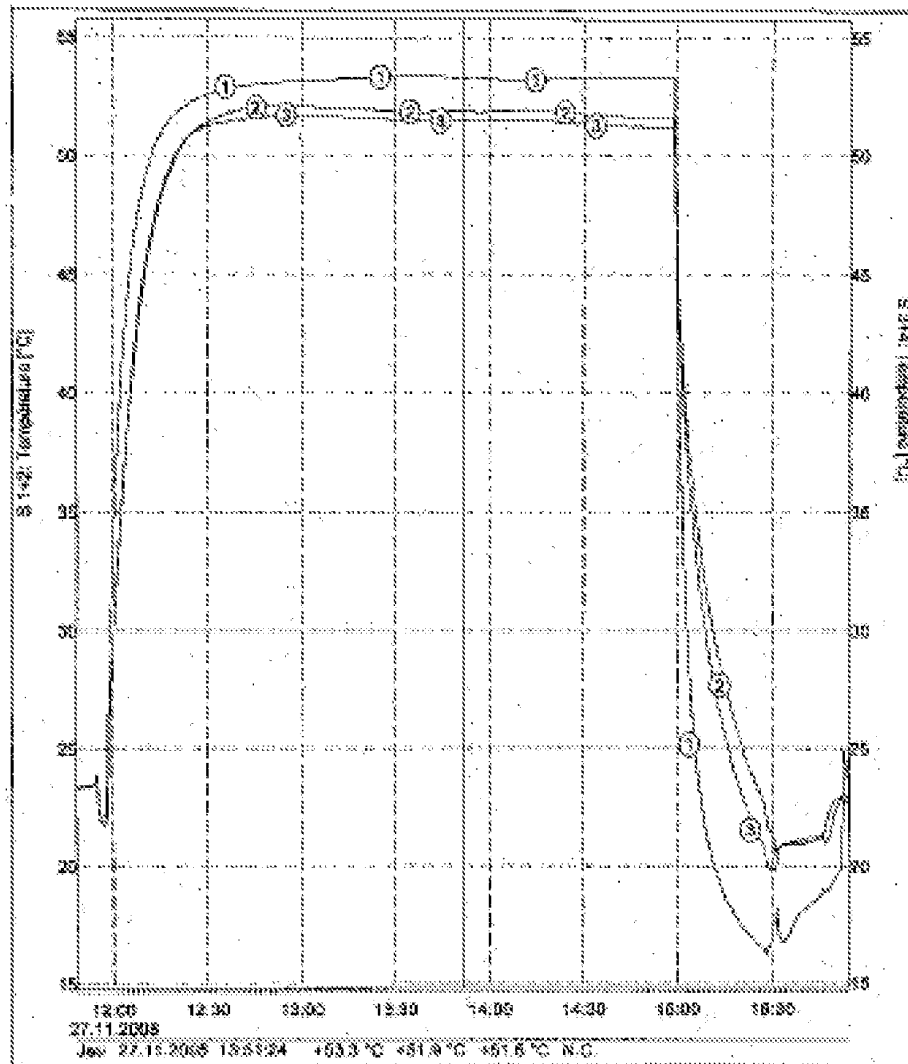


Figure 5

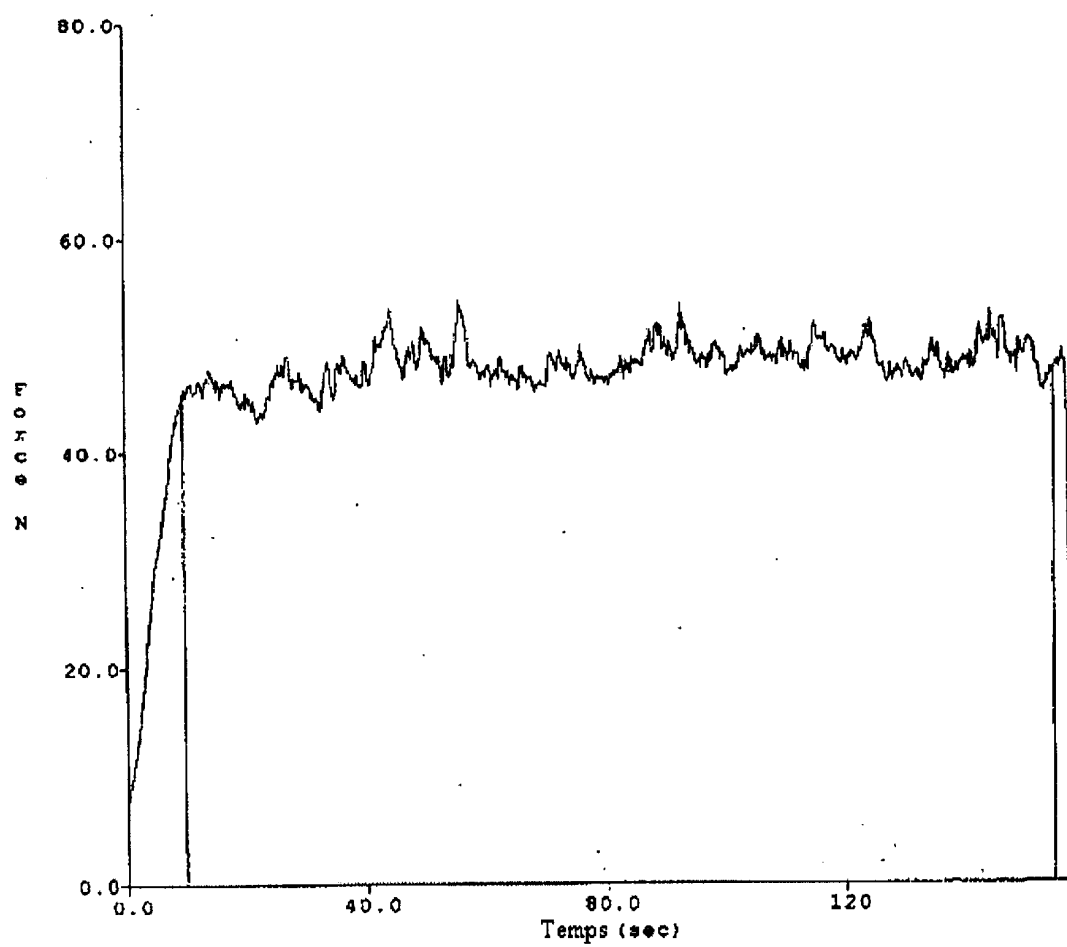


Figure 6

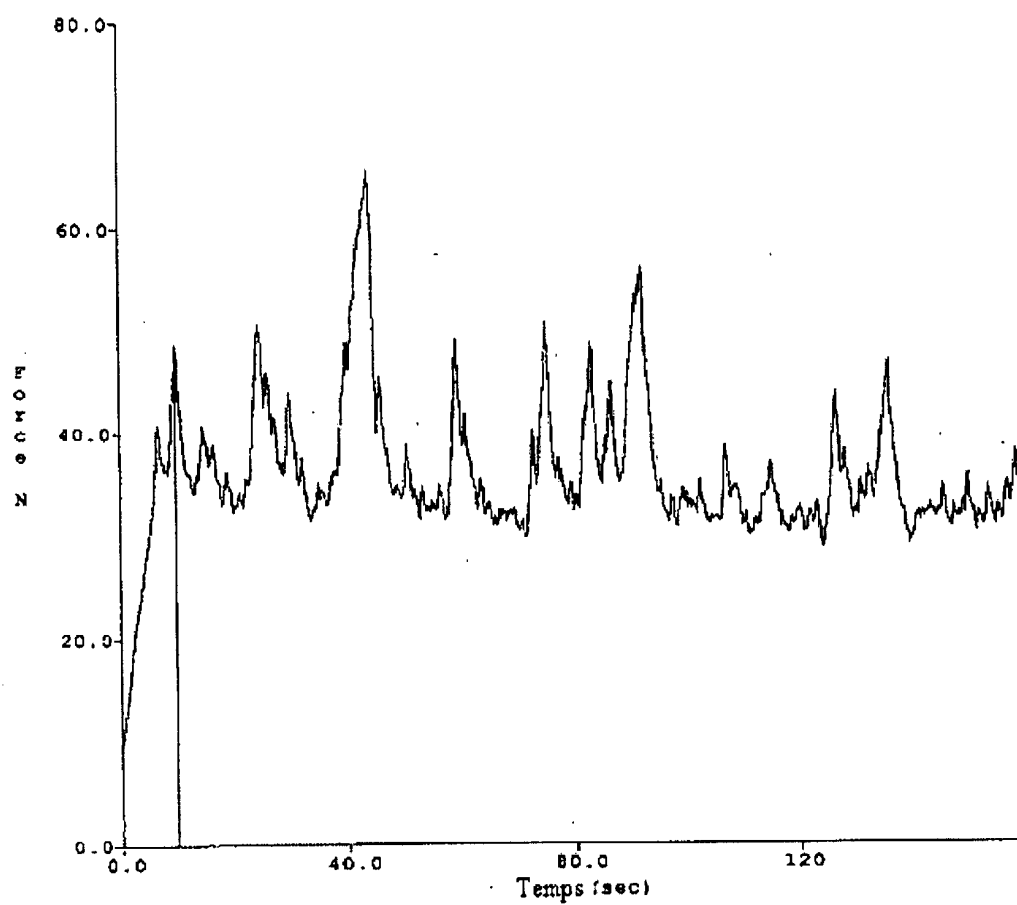
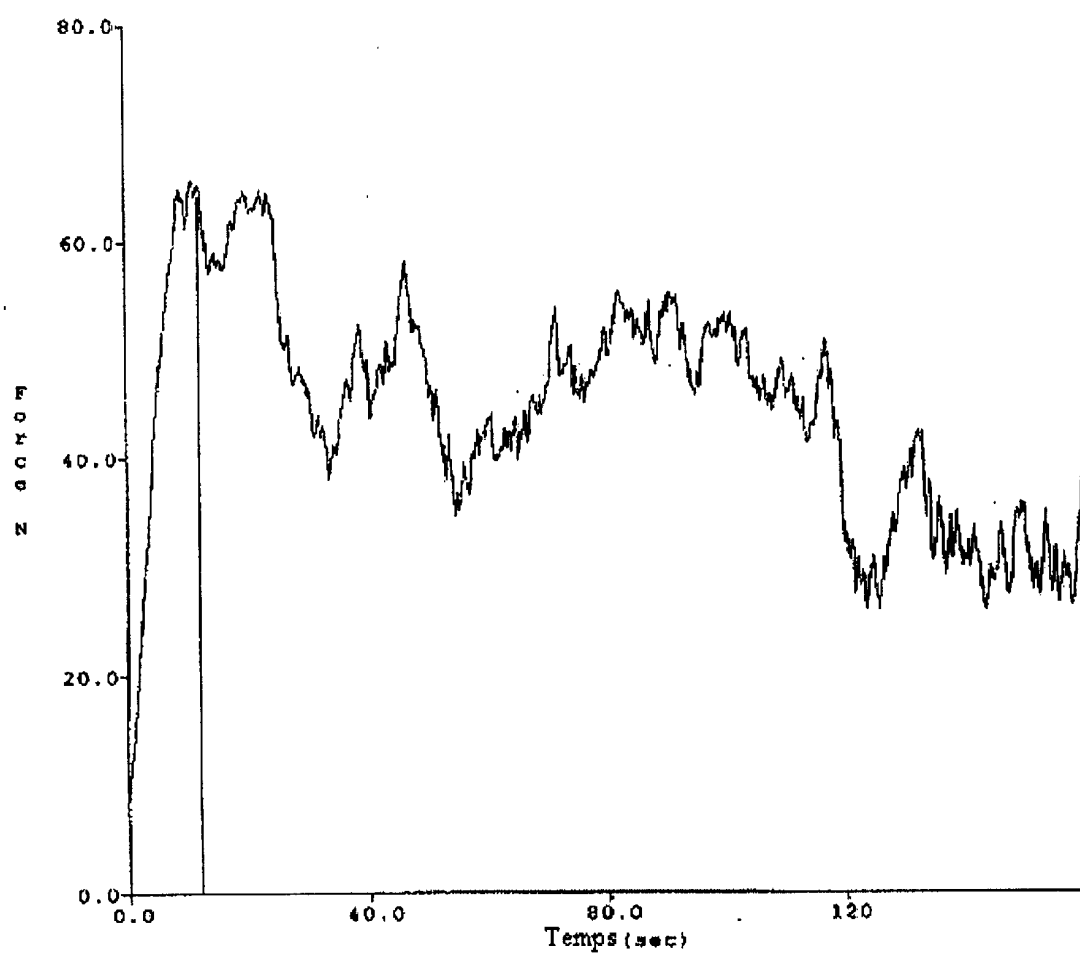


Figure 7





RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 722543
FR 0953108

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	US 2003/148995 A1 (PIRON ESTELLE [FR] ET AL) 7 août 2003 (2003-08-07) * alinéas [0016] - [0018]; revendications; exemples 1,2 *	1-19	C08J3/24 C08J3/075 C08B37/08 A61K8/73 A61K31/738 A61Q19/08
D,A	US 2005/142152 A1 (LESHCHINER ADELYA K [US] ET AL) 30 juin 2005 (2005-06-30) * alinéa [0002]; exemples 1,33 *	1-19	
A	WO 2005/112888 A (MENTOR CORP [US]; WANG WEI [GB]) 1 décembre 2005 (2005-12-01) * page 1, ligne 10-30; revendications; exemples *	1-19	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
			A61K A61Q C08J A61J
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
1 février 2010		Frison, Céline	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0953108 FA 722543

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **01-02-2010**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2003148995 A1	07-08-2003	CA 2416504 A1	24-01-2002
		DE 60113121 D1	06-10-2005
		DE 60113121 T2	14-06-2006
		EP 1303542 A1	23-04-2003
		ES 2250441 T3	16-04-2006
		FR 2811996 A1	25-01-2002
		WO 0206350 A1	24-01-2002

US 2005142152 A1	30-06-2005	US 2007036745 A1	15-02-2007

WO 2005112888 A	01-12-2005	CA 2567532 A1	01-12-2005
		EP 1750769 A2	14-02-2007
		US 2005281880 A1	22-12-2005
