

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 770 498**

51 Int. Cl.:

A61K 9/06 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/02 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

A61K 31/192 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.08.2013** **PCT/EP2013/002523**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.03.2014** **WO14032780**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2013** **E 13752835 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2019** **EP 2890399**

54 Título: **Hidrogeles híbridos**

30 Prioridad:

28.08.2012 US 201261693803 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.07.2020

73 Titular/es:

UNIVERSITY OF GENEVA (100.0%)
24, rue du General-Dufour
1211 Geneve 4, CH

72 Inventor/es:

JORDAN, OLIVIER;
KADERLI, SEMA GWENDOLYN y
GURNY, ROBERT

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 770 498 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

Hidrogeles híbridos

- 5 La presente invención se refiere a composiciones y a composiciones farmacéuticas que forman hidrogeles, a su uso en aplicaciones médicas y a métodos para prepararlas, así como a dispositivos médicos que las comprenden.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 El ácido hialurónico ("hyaluronic acid", HA) y las composiciones que comprenden HA se conocen desde hace tiempo. El HA se ha combinado con diversos otros compuestos y se ha aplicado en una serie de aplicaciones médicas. En formulaciones en gel, estas aplicaciones incluyen el tratamiento de problemas de articulaciones y, en concreto, para problemas de las articulaciones de la rodilla.

- 15 Un tratamiento médico aprobado es, por ejemplo, Synvisc-One™ (hilano G-F 20) de Genzyme Corporation, indicado para el tratamiento del dolor en la osteoartritis (OA) de la rodilla en pacientes.

- En la técnica se conocen diversas composiciones que contienen HA con otros componentes. El quitosano tiene un interés particular por su combinación de biocompatibilidad, biodegradabilidad, bioadhesividad, así como por sus propiedades de estimulación de la curación de heridas y bacteriostáticas (Pangburn S.H., Trescony P.V., Heller J., Lysozyme degradation of partially deacetylated chitin, its films and hydrogels, *Biomaterials*, 1982, 3:105-108; Tomihata K., Ikada Y., *In vitro* and *in vivo* degradation of films of chitin and its deacetylated derivatives, *Biomaterials*, 1997, 18:567-575; Lehr C.M., Bouwstra J.A., Schacht E.H., Junginger H.E., *In vitro* evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers, *Int. J. Pharm.*, 1992, 78:43-48; Ueno H., Mori T., Fujinaga T., Topical formulations and wound healing applications of chitosan, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2001, 52:105-115; Liu N., Chen X.G., Park H.J., Liu C.G., Liu C.S., Meng X.H., Yu L.J., Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Escherichia coli*, *Carbohydr. Polym.*, 2006, 64:60-65).

- Se ha intentado combinar el HA y el quitosano de muchas formas. Por ejemplo, el documento US2009/0238874 A1 describe composiciones biomiméticas reforzadas por un complejo polielectrolítico de ácido hialurónico y quitosano. El HA y el quitosano se ensamblan en forma seca sin adición de excipientes. Los compuestos se disponen como complejos poliónicos que representan una red de fibras insoluble y membranas finas, en la que una separación de fases conduce a dominios segregados ricos en HA y ricos en quitosano. Sin embargo, dicha distribución no resulta deseable para muchas aplicaciones.

- 35 Una publicación de Denuziere, A. *et al.* (*Biomaterials*, 19:1275-1285, 1998) describe complejos de polielectrolitos de quitosano-sulfato de-condroitina y quitosano-hialuronato.

- El documento US2006/0166928 A1, con el título "Gel derivado del ácido hialurónico y método para prepararlo" describe HA derivatizado unido covalentemente al quitosano a través de la amidación de EDC/NHS que tiene una proporción de HA:quitosano de 5 a 40. El compuesto muestra capacidad de termogelificación. El documento US 2009/0238875 titulado "Hidrogeles basados en quitosano o hialurónico-poli(óxido de etileno) y quitosano-ácido hialurónico-poli(óxido de etileno) y método para su fabricación" se refiere a hidrogeles de quitosano-poli(óxido de etileno) (PEO), HA-PEO, quitosano-HA-PEO obtenidos mediante la adición química a través de la química del acrilato para su uso en el transporte de proteínas y péptidos.

- 45 El documento CN 10167600 se refiere a biomembranas de HA-quitosano.

- El documento US 7.524.514 se refiere a composiciones biomiméticas reforzadas por un complejo polielectrolítico de HA y quitosano.

- 50 El documento WO 2005/113608 describe un método para unir covalentemente el hialuronano y el quitosano.

- Los hidrogeles consisten en redes tridimensionales de polímeros naturales o sintéticos dispersados en agua. La reticulación física o química asegura la insolubilidad y la estabilidad del gel de polímeros. Los hidrogeles muestran una elevada absorbancia para el agua y pueden contener tanto como 99,9% de agua. Pueden desearse hidrogeles que sean transparentes y que no contengan ningún agregado. Hasta la fecha no se han descrito hidrogeles formados a partir de HA y quitosano sin una cantidad significativa de agregados, y estos serían útiles para una serie de aplicaciones médicas.

- 60 La técnica anterior descrita no describe ni sugiere la invención descrita a continuación. En particular, la técnica anterior no describe ni sugiere geles transparentes sin agregados.

SUMARIO DE LA INVENCION

- En un aspecto, la invención se refiere a una composición que consiste en:

- 65 i. un ácido hialurónico;

- ii. un quitosano; y
- iii. al menos un compuesto iónico,

que se caracteriza por que la composición es un hidrogel, y en la que el compuesto iónico comprende iones Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} o/y Al^{3+} , y en la que el hidrogel muestra una elevada homogeneidad, y se caracteriza por la no aparición de agregados, producida mediante un método según se describe en la presente.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende además uno o más compuestos farmacéuticamente activos.

En otro aspecto, la invención se refiere a un método para fabricar una composición o una composición farmacéutica que comprende las etapas de:

- i. proporcionar una disolución que comprende quitosano;
- ii. añadir al menos un compuesto iónico en forma de polvo, en el que el compuesto iónico comprende iones Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} o/y Al^{3+} ,
- iii. añadir ácido hialurónico en forma de polvo;
- iv. mezclar los componentes; y
- v. dejar en reposo durante la noche a 4° C dicha composición mezclada, en el que el quitosano se usa como una disolución madre que consiste en 2,5% (en m/v) de quitosano en ácido clorhídrico 0,1 M, pH 6,5.

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición, según se describió anteriormente, para su uso en una aplicación médica.

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición, según se describió anteriormente, para su uso como un medio de transporte y/o como un dispositivo médico.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La técnica anterior describe composiciones de ácido hialurónico (HA) y la combinación del HA con otros compuestos, tales como el quitosano. En la técnica también se describen hidrogeles, así como diversos usos médicos y no médicos de dichas composiciones.

Las respectivas composiciones e hidrogeles de la técnica anterior muestran características específicas dependiendo de la composición concreta. Las características de las respectivas composiciones no siempre son ventajosas para todas las posibles aplicaciones.

Por consiguiente, un objeto de la presente invención consiste en proporcionar composiciones de HA-quitosano útiles como hidrogeles que tienen características ventajosas, o al menos para mejorar la técnica actual de los hidrogeles de HA-quitosano.

Este objeto se consigue mediante una composición que consiste en:

- i. un ácido hialurónico;
- ii. un quitosano; y
- iii. al menos un compuesto iónico,

que se caracteriza por que la composición es un hidrogel, y en la que el compuesto iónico comprende iones Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} o/y Al^{3+} , y en la que el hidrogel muestra una elevada homogeneidad, y se caracteriza por la no aparición de agregados, producida mediante un método según se describe en la presente.

La no aparición de agregados visibles se observa preferiblemente con una inspección visual o más preferiblemente mediante un análisis microscópico visible.

Los inventores han descubierto, de forma sorprendente, que la adición de un excipiente, definido como cualquier constituyente de un producto medicinal que no es una sustancia activa (adyuvantes, estabilizantes, conservantes antimicrobianos, diluyentes, antioxidantes) según la Farmacopea Europea, conduce a hidrogeles ventajosos con una agregación reducida y, en una realización preferida, no contienen ningún agregado visible. El hidrogel obtenido mediante la invención es ópticamente transparente.

El simple mezclado de quitosano y HA en forma hidratada o seca, según se describe en la técnica anterior, produce, de modo no ventajoso, geles heterogéneos. Los dos biopolímeros forman complejos polielectrolíticos en la región del contacto físico íntimo, produciendo una red de fibras insolubles y membranas finas que conduce a dominios segregados ricos en HA y ricos en quitosano con propiedades no homogéneas.

La invención resuelve este problema y proporciona composiciones de hidrogeles que son homogéneas, estables y biocompatibles que comprenden HA y quitosano en proporciones elegidas.

- 5 Resultó sorprendente que la adición de un excipiente, y preferiblemente sales o combinaciones de sales específicas, pudiera conducir a dichas composiciones e hidrogeles ventajosos.

10 Otra ventaja es que, por contraste con composiciones de HA/quitosano conocidas, no se requiere la modificación covalente de los componentes básicos para lograr hidrogeles homogéneos. Por consiguiente, pueden evitarse características impredecibles del compuesto y posibles efectos secundarios debidos a la modificación química. Esto no solo beneficiará a los pacientes tratados, sino que mejorará la seguridad y la biocompatibilidad. Además, facilitará la aprobación regulatoria y, por tanto, será más barato para la industria y para el sistema de salud.

15 Por tanto, la invención ha resuelto el problema de las mezclas heterogéneas de HA/quitosano y proporciona hidrogeles homogéneos.

En suma, la invención proporciona, de modo ventajoso, un hidrogel con dos componentes bien caracterizados muy conocidos con mejores características de materiales y mejores efectos secundarios, tales como el ahorro de dinero.

20 Los resultados logrados con la invención también son sorprendentes porque los inventores decidieron embarcarse en una estrategia que en general se considera que no tendrá éxito. Además, los inventores combinaron dos compuestos, concretamente HA y quitosano, que, según el punto de vista general en química, no deben combinarse de esta manera. De hecho, la opinión general es que no se deben mezclar el HA y el quitosano porque los compuestos se consideran incompatibles. No obstante, los inventores decidieron hacerlo en contra del paradigma químico.

25 De modo sorprendente, los inventores fueron capaces de obtener geles transparentes, en apariencia exentos de partículas, fibras u otros agregados que se encuentran habitualmente en mezclas de electrolitos con cargas opuestas. La capacidad de obtener una sola fase homogénea en la composición puede asegurar un mayor control de las propiedades de la formulación, asegurando con ello una vía regulatoria más fácil, así como una mejor aceptabilidad en el mercado. Además, este resultado puede obtenerse sin un aumento en la viscosidad, comparado con la de los componentes/constituyentes por separado.

30 La composición de la invención puede usar cualquier ácido hialurónico adecuado, y los expertos en la técnica adaptarán la cantidad contenida en la composición según las aplicaciones finales y sus necesidades. En una realización preferida, la composición comprende ácido hialurónico en forma de hialuronato de sodio, preferiblemente obtenido a partir de una fuente bacteriana estreptocócica.

35 Puede elegirse cualquier distribución de masa molecular adecuada dependiendo de los componentes de la composición y el posible uso. En una realización preferida, la composición se caracteriza por una distribución de masa molecular de aproximadamente 2 a aproximadamente KDa, más preferiblemente de aproximadamente 1300 KDa.

40 Los expertos en la técnica elegirán para la composición un índice de polidispersión adecuado, definido como la proporción de masa molar media ponderada P_m a la masa molar numérica media P_n . Preferiblemente, el hialuronato de sodio (ácido D-glucurónico/GlcA) se caracteriza por un índice de polidispersión de aproximadamente 1 a 1,6, más preferiblemente de 1,07 a 1,55, aún más preferiblemente de aproximadamente 1,2.

45 El quitosano usado en la composición según la invención puede ser cualquier quitosano disponible que pueda adquirirse en suministradores químicos conocidos. El quitosano puede estar químicamente modificado o no modificado de cualquier manera adecuada. En una realización preferida, el quitosano es una poli- β_{1-4} -glucosamina (quitosano) modificada o no modificada obtenida a partir de *Agaricus bisporus*, más preferiblemente caracterizada por un grado de desacetilación de aproximadamente 45 a aproximadamente 70%, aún más preferiblemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 60%, aún más preferiblemente de aproximadamente 50% de DDA (RMN).

50 La distribución de la masa molecular también se adaptará según el diseño de la composición y los posibles usos según sea apropiado. Preferiblemente, el quitosano tiene una distribución de masa molecular de aproximadamente 1 a 2000 KDa, más preferiblemente de aproximadamente 50 a 150 KDa, aún más preferiblemente de 50 a 100 KDa o de aproximadamente 110 a 130 KDa, aún más preferiblemente de aproximadamente 120 KDa, aún más preferiblemente de aproximadamente 100KDa.

55 El índice de polidispersión puede variar, pero se prefiere un índice de polidispersión de 1,6 o menor, más preferiblemente de 1,4 o menor, aún más preferiblemente de 1,1 o menor.

60 El pH puede influir en las características de los compuestos y se elegirá para que se encuentre en un intervalo ventajoso. Preferiblemente, la composición muestra un pH de aproximadamente 6 a 8, más preferiblemente de

aproximadamente 6,5 a 7,5. El pH alcanzado por las formulaciones es compatible con la fisiología de muchas vías de aplicación terapéuticas.

5 La inclusión de compuestos iónicos puede ser ventajosa y, por tanto, la composición en una realización preferida contiene un compuesto iónico, y preferiblemente el compuesto iónico comprende iones Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} o/y Al^{3+} .

10 En la composición según la invención, las proporciones de los componentes i.), ii.) y iii.) pueden variar, y se elegirán de tal modo que se optimicen las características de la composición. En una realización preferida, los compuestos i.) y ii.) están presentes en la composición en una proporción en peso de 1000:1 a 1:2, más preferiblemente de 40:1 a 3:2.

15 En ciertas aplicaciones, la cantidad de quitosano puede mantenerse a un intervalo menor para evitar efectos secundarios médicos conectados con este compuesto o con las impurezas procedentes del proceso de producción, mientras que, en otras aplicaciones, el contenido en quitosano será particularmente elevado. Lo mismo se aplica al HA en la composición de la invención.

20 También será útil, en ciertas realizaciones y dependiendo del uso particular, incluir preferiblemente un tampón en la composición. Los expertos en la técnica elegirán el tampón más adecuado en el contexto del uso de la composición. Preferiblemente, el tampón es un tampón de ácido bórico/tetraborato de sodio o un tampón fosfato. Esta composición puede tener un pH ventajoso en el contexto de la aplicación de la composición, y preferiblemente la composición tiene un pH de aproximadamente 5,5 a 7,5, más preferiblemente de aproximadamente 6 a 7, y aún más preferiblemente de aproximadamente 7.

25 Una realización particularmente preferida contiene NaCl, preferiblemente con otros componentes tamponantes.

La osmolaridad será un aspecto importante en ciertos usos y, por tanto, se adaptará y optimizará dependiendo de ello. En una realización preferida, la composición se formula como una disolución isotónica o ligeramente hipertónica, preferiblemente con una osmolaridad que varía de 280 a 500 mOsmoles.

30 En aplicaciones médicas, la pureza y un grado bajo de inmunogenicidad son puntos importantes en el contexto de las consideraciones de seguridad de un producto médico y tienen un impacto sobre las cuestiones regulatorias. No siempre son previsibles ni siempre estarán predeterminadas cuáles serán las impurezas que aparezcan como consecuencia de un proceso de producción concreto. Además, no puede predecirse con exactitud cuáles serán las moléculas de impurezas que provoquen un efecto inmunogénico no deseado. En el contexto de la invención, resulta ventajoso reducir el contenido en proteínas residuales que se originan de la producción de los componentes individuales del compuesto de la invención. Por tanto, sería ventajoso limitar el contenido en proteínas residuales hasta cierta cantidad, para evitar efectos secundarios inmunológicos no deseados y para aumentar la seguridad del compuesto. Por consiguiente, en una realización preferida, el contenido en proteínas residuales es menor que 0,5%, preferiblemente menor que 0,2%, más preferiblemente menor que 0,1%.

40 La viscosidad del compuesto es un aspecto principal de la composición de la invención y, por tanto, los componentes del compuesto se mezclarán en una proporción para lograr una viscosidad adecuada para el uso o método de uso deseado.

45 Los expertos en la técnica apreciarán que, por ejemplo, para una aplicación tópica, es necesaria una alta viscosidad, mientras que una aplicación en oftalmología o para la inyección dérmica requerirá una viscosidad menor, y la administración intraarticular requerirá una viscosidad intermedia.

50 En realizaciones preferidas, la viscosidad puede adaptarse eligiendo los componentes individuales de una manera específica, y la composición se caracteriza por una viscosidad de 0,05-10 Pa·s, preferiblemente de 0,5 a 5 Pa·s, más preferiblemente de 5 Pa·s, medida mediante reometría rotacional con una geometría de cono-placa de diámetro de 35 mm/2° a una velocidad de cizallamiento de 46 s^{-1} . Para la aplicación intraarticular se emplea un amplio intervalo de viscosidades típicas, que varían de 0,05 a 50 Pa·s. Pueden usarse viscosidades similares para aplicaciones oftálmicas. La aplicación tópica también puede llevarse a cabo con formulaciones muy viscosas (varios 10^2 Pa·s) o viscoelásticas. Cualquier quitosano del mercado u obtenido mediante modificación química puede aplicarse en la invención. Puede resultar ventajoso para usos humanos y médicos emplear preferiblemente quitosano obtenido de un origen no animal, preferiblemente un proceso de fermentación o una extracción a partir de hongos. Una fuente no animal del polímero proporciona, de modo ventajoso, un riesgo reducido de reacción inmunológica.

60 La composición según la invención puede ser cualquier composición con cualquier grado de pureza, dependiendo de los usos a los que se aplica. El grado y el estándar de pureza dependerán de las disposiciones técnicas, legales o regulatorias y pueden variar de un país a otro. Los expertos en la técnica sabrán qué materiales de partida usar para alcanzar ciertos estándares y grados de pureza.

65 En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica.

En otro aspecto, la composición o la composición farmacéutica según la invención forma hidrogeles híbridos. Híbrido se refiere a la naturaleza de una entidad formada o compuesta de elementos heterogéneos, más específicamente en un hidrogel basado en la asociación de dos polímeros diferenciados, en oposición a los hidrogeles clásicos de un solo componente (Matricardi P. *et al.*, *Macromolecular Research*, 19(12):1264-1271, 2011; Epstein-Barach H. *et al.*, *Acta Biomaterialia*, 8:1703-1709, 2012; Zhang L. *et al.*, *Carbohydrate Polymers*, 84:118-125, 2011)

En la bibliografía, los "hidrogeles híbridos" se refieren a la asociación de dos componentes muy diferentes para producir una estructura similar a un gel: nanopartículas en un gel, agregados inorgánicos en un gel, o la asociación de un polímero sintético con un péptido o proteínas. En una realización preferida de la invención, el término "híbrido" se usa de una forma más específica, concretamente, se combinan en un gel dos polímeros hidrófilos diferentes. En esta realización preferida, los hidrogeles pueden distinguirse en hidrogeles de un solo componente, más preferiblemente, e hidrogeles híbridos, aún más preferiblemente.

El hidrogel de la invención es preferiblemente transparente.

Un líquido se considera transparente si su transparencia es igual que la del agua, medida según el método estándar de la Farmacopea Europea con luz diurna contemplándolo en vertical contra un fondo negro. La transparencia perfecta de la formulación proporciona la ventaja de una mayor reproducibilidad de la preparación, así como un mejor uso controlado.

Una ventaja concreta de una realización preferida es que el hidrogel formado por la composición de la invención mantiene la transparencia y/o el pH después de un ciclo de esterilización con autoclave/vapor, preferiblemente cuando este ciclo se caracteriza por una temperatura de 121° C y una duración de preferiblemente 10 min. De modo sorprendente, la adición de quitosano a la formulación de HA aumenta la resistencia del HA al proceso en autoclave, tal como se muestra mediante la reducción de la pérdida de viscosidad inducida por el proceso en autoclave. Se espera que este efecto protector de la combinación de quitosano-HA con respecto a la degradación térmica facilite la esterilización final del producto final de gel híbrido y, por tanto, facilite la preparación de formulaciones terapéuticas estériles.

Se prefiere que la composición o la composición farmacéutica de la invención esté fundamentalmente exenta de agregados de ácido hialurónico y quitosano.

Se prefiere en particular que la composición o la composición farmacéutica de la invención contenga menos del 10%, preferiblemente menos del 5%, más preferiblemente menos del 1% y lo más preferiblemente menos del 0,01% de agregados visibles, tal como pueden verse mediante microscopía óptica con un aumento bajo (10 X).

En otra realización preferida de la invención, el ácido hialurónico se estabiliza para evitar la agregación con otros componentes de la formulación.

La composición o la composición farmacéutica puede combinarse con otros compuestos o mezclas de compuestos, con la condición de que no interfieran con los compuestos de la composición principal, y preferiblemente con la condición de que no interfieran con las características ventajosas de la invención.

La presencia de quitosano en el nuevo gel híbrido abre la vía a la incorporación de fármacos aniónicos, que pueden unirse a los grupos catiónicos del quitosano y ser liberados lentamente tras un intercambio iónico con iones fisiológicos, dando como resultado con ello una liberación extendida o una mejor incorporación del fármaco comparado con un gel de HA. Estas características pueden tener un alto valor terapéutico. De modo similar, la interacción hidrófoba del quitosano-fármaco puede permitir la incorporación de fármacos que habitualmente no se pueden cargar en los geles de HA de un solo componentes clásicos.

Por tanto, en una realización preferida, la composición o la composición farmacéutica comprende además uno o más compuestos farmacéuticamente activos. El compuesto farmacéuticamente activo puede ser cualquier compuesto activo compatible con la composición de la invención, y preferiblemente comprende un compuesto activo seleccionado del grupo que consiste en fármacos, agentes citotóxicos, proteínas, hormonas, ácidos nucleicos, vectores, células o/y lípidos.

En particular, el compuesto activo se selecciona de fármacos antioxidantes, fármacos antiinflamatorios, preferiblemente un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, tal como ibuprofeno, fármacos para oftalmología, moléculas que estimulan la adhesión, la diferenciación o el crecimiento de células.

La viscosidad del hidrogel puede adaptarse al uso concreto, y la adaptación de la viscosidad se logra mezclando los componentes de la composición de la invención en unas proporciones que conducen a la viscosidad deseada. En realizaciones preferidas, la composición o la composición farmacéutica tiene una viscosidad de 0,05-10 Pa·s, preferiblemente de 0,5 a 5 Pa·s, más preferiblemente de 5 Pa·s, medida mediante reometría rotacional con una geometría de cono-placa de diámetro de 35 mm/2° a una velocidad de cizallamiento de 46 s⁻¹.

La composición de la invención puede fabricarse mediante un método para fabricar una composición o una composición farmacéutica que comprende las etapas de:

- i. proporcionar una disolución que comprende quitosano;
- ii. añadir compuestos iónicos en forma de polvos;
- iii. preferiblemente, añadir ácido hialurónico en forma de polvo;
- iv. mezclar los componentes; y
- v. preferiblemente, dejar en reposo durante la noche a 4°C dicha composición mezclada.

El método de fabricación, de modo más específico el orden de adición de los componentes, permite la preparación de una formulación no agregada y homogénea. Es importante añadir el aditivo estabilizante a uno de los polímeros antes de mezclar, puesto que la agregación es difícil de revertir. La adición de HA en forma de polvos es un proceso preferido para asegurar una mayor homogeneidad de la composición final; sin embargo, es posible añadir HA como una disolución viscosa.

Un "gel homogéneo" se entiende en la presente como un aspecto concreto de transparencia, no relacionado con la presencia de partículas sino con la ausencia de fluctuaciones en el índice de refracción, que distorsionarían la imagen cuando se contempla a través de una cubeta que contiene el gel. Un mezclado completo de los dos polímeros puede caracterizarse por una homogeneidad óptica, por contraste con un mezclado incompleto, que inducirá fluctuaciones en el índice de refracción.

Los componentes aplicados en este método de fabricación se han descrito anteriormente y serán más evidentes a partir de la sección de ejemplos. Esto se aplica en particular al origen de los compuestos aplicados en el método de fabricación y su grado de pureza y su origen o a los métodos y las fuentes a partir de los cuales se obtienen los compuestos individuales.

En una realización preferida del método, el quitosano se emplea como una disolución madre que comprende o que consiste en 2,5% (en m/v) de quitosano en ácido clorhídrico 0,1 M, pH 6,5.

Las composiciones obtenidas de este modo o con otros métodos pueden usarse en una aplicación médica.

La indicación médica no se limita a cualquier enfermedad o trastorno concretos, preferiblemente la composición de la invención se emplea para la aplicación en el uso de una aplicación oftálmica, tópica, sistémica o intraarticular.

Otros usos médicos, métodos de tratamiento e indicaciones pueden relacionarse con la regeneración de tejidos corporales, en los que el gel acaba incorporando fármacos para estimular la curación en sitios específicos de tejidos. La forma y la vía de aplicación en general no están restringidas, y la composición puede aplicarse mediante cualquier vía de aplicación conocida, en particular resulta adecuada para una aplicación tópica, i.v., i.m., s.c., la aplicación a una articulación o al ojo.

La composición y el hidrogel de la invención también pueden usarse como un medio de transporte o/y como un dispositivo médico.

En otro aspecto, la invención se dirige a una composición o una composición farmacéutica como se describió anteriormente para su uso en aplicaciones estéticas, preferiblemente para aplicaciones cosméticas.

La composición puede usarse con adyuvantes adecuados o en combinación con otros compuestos activos que se aplican con frecuencia en aplicaciones cosméticas y que son muy conocidos por los expertos en la técnica. En una realización preferida, la composición se aplica por vía intradérmica o subdérmica.

Las características positivas del hidrogel de la invención son particularmente útiles en aplicaciones estéticas y para objetivos cosméticos. Por tanto, la invención puede aplicarse, por ejemplo, en todas las áreas cosméticas en las que el aspecto de un tejido se va a mejorar o se va a aumentar el volumen en áreas definidas, por ejemplo, los labios, otras partes faciales.

Otra área de aplicación, por ejemplo, es el tratamiento de las arrugas. Los efectos secundarios son pocos comparado con el número de pacientes tratados. Las composiciones de la invención ofrecen seguridad y eficacia al paciente, lo cual es importante para indicaciones cosméticas.

Los expertos en la técnica de la cirugía cosmética y los tratamientos estéticos conocen bien los tratamientos con ácido hialurónico en este campo. Al funcionar igualmente bien y con mejores resultados, los expertos en la técnica apreciarán que los componentes de la invención serán aplicables en estos casos y proporcionan resultados de tratamiento ventajosos.

Las inyecciones pueden realizarse como una única inyección o como una serie de inyecciones repetidas. Además, la dosificación y el volumen inyectado variarán dependiendo de las circunstancias concretas.

Las características preferidas de la invención descritas anteriormente pueden encontrarse en la invención como características individuales o una o más de estas características pueden combinarse en la invención. Por consiguiente, se encuentra dentro del alcance de la invención la producción o el uso de cualquier combinación de características que se han descrito a lo largo de la memoria descriptiva o en los ejemplos y las reivindicaciones. Los expertos en la técnica apreciarán que ciertas combinaciones concretas de características preferidas tendrán efectos ventajosos que pueden ser probados mediante experimentos obvios para los expertos en la técnica del campo de la invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA FIGURAS

Figura 1: Fotografía de una formulación agregada, obtenida a partir de una mezcla simple de quitosano y HA (izquierda), comparada con una formulación no agregada obtenida tras la adición de excipientes apropiados del ejemplo 2 (derecha). Ambas formulaciones están colocadas en cubetas espectrofotométricas desechables.

Figuras 2/3: Fotografía de una formulación agregada (figura 2) y una formulación no agregada (figura 3) bajo microscopía de contraste de fases (10 x aumento, objetivo pHl).

Figura 4: Viscosidades de formulaciones de hidrogeles híbridos con CaCl_2 al 1% a 0,65, 0,35 y 0,05% de quitosano (Cs) en comparación con una formulación de HA al 1% medidas a una velocidad de cizallamiento ($\dot{\gamma}$) de 46 [1/seg]. Las barras a la izquierda representan la viscosidad antes del proceso en autoclave, las barras a la derecha representan la viscosidad después de 15 minutos en el autoclave.

Figura 5: Viscosidades de formulaciones de hidrogeles híbridos tras un proceso en autoclave con HA al 2% y quitosano al 0,5% (Cs) en comparación con una formulación de HA al 2% tras un proceso en autoclave (a $\dot{\gamma}$ 46 [1/seg]) después de 10 min en el autoclave.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Fabricación de una disolución madre de quitosano

Se prepara un gel madre de quitosano (Cs) como sigue: una disolución de Cs al 2,5% en ácido clorhídrico 0,1 M se lleva a pH 6,5 mediante la adición gota a gota de hidróxido de sodio 1 M. El gel se diluye hasta 2% y deja en reposo durante una noche a 4° C.

Ejemplo 2: Fabricación de un hidrogel híbrido (formulación preferida 1)

Se disuelven cantidades pesadas de excipientes (NaCl , Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4) en agua para obtener la concentración deseada. Se añade quitosano y la composición se agita, por ejemplo, con un agitador magnético, a temperatura ambiente hasta la disolución completa del polisacárido (generalmente durante la noche). Después se añade el polvo de HA y la suspensión se deja en reposo a 4° C durante una noche. El mezclado con un mezclador de palas a 300 rotaciones/minuto durante 10 minutos y el reposo a 4° C durante la noche conducen a la formación de un gel híbrido homogéneo.

Ejemplo 3: Fabricación de un hidrogel híbrido (formulación preferida 2)

Se disuelven cantidades pesadas de excipientes (CaCl_2 , ácido bórico, tetraborato de sodio) en agua para obtener la concentración deseada. Se añade quitosano y la composición se agita, por ejemplo, con un agitador magnético, a temperatura ambiente hasta la disolución completa del polisacárido (generalmente durante la noche). Después se añade el polvo de HA y la suspensión se deja en reposo a 4° C durante una noche. El mezclado con un mezclador de palas a 300 rotaciones/minuto durante 10 minutos y el reposo a 4° C durante la noche conducen a la formación de un gel híbrido homogéneo.

Ejemplo 4: Esterilización con vapor (proceso en autoclave) de una formulación de gel híbrido

Se vierten 2 mililitros de la formulación en un vaso de penicilina de 5 ml, se tapa con un tapón de corcho y se sella. El proceso en autoclave se realiza durante 10 minutos a 121° C, se extrae el vapor y el autoclave se abre antes de que finalice el enfriamiento para reducir el tiempo total del ciclo a 30 minutos. La figura 4 ilustra la disminución de la viscosidad de la formulación tras el proceso en autoclave, demostrando que la viscosidad disminuye en 10 veces para el HA sin quitosano, mientras que disminuye solo en 3 veces para el gel híbrido que incorpora 0,65% de Cs.

Ejemplo 5: Carga de fármaco en una formulación de gel híbrido 1

Se añade ibuprofeno al 0,5% en p/p junto con excipientes pesados (NaCl , Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4) a agua en una cantidad adecuada para alcanzar la concentración deseada. Se añade quitosano y la composición se agita, por ejemplo, con un agitador magnético, a temperatura ambiente hasta la disolución completa (generalmente durante la noche). Entonces se añade polvo de HA y la suspensión se deja en reposo a 4° C durante una noche. El mezclado con un mezclador de palas a 300 rotaciones/minuto durante 10 minutos y el reposo a 4° C durante la noche conducen a la formación de un gel híbrido homogéneo.

Ejemplo 6: Caracterización de la ausencia de agregación y la homogeneidad

Los hidrogeles obtenidos en el ejemplo 2 se inspeccionaron de modo visual según el método estándar de la Farmacopea Europea con luz diurna contemplándolos en vertical contra un fondo negro.

La figura 1 ilustra el resultado del ensayo. Contra un fondo negro, la formulación a la izquierda es claramente turbia y muestra la presencia de agregados. La formulación a la derecha es transparente. Otra inspección usando microscopía óptica de contraste de fases con un aumento bajo (objetivo 10X) muestra la presencia de algunos agregados (figura 2).

5 Cuando se contempla a través de la cubeta mostrada a la derecha de la figura 1, se observa una imagen inalterada y no distorsionada, lo cual indica la ausencia de fluctuaciones importantes en la refracción y, por tanto, la homogeneidad del gel. La microscopía óptica confirma la ausencia de agregados (figura 3).

10 Ejemplo 7: Medición de la viscosidad

La viscosidad se mide con un Haake Rheostress 1 (Haake, Karlsruhe, Alemania) usando una geometría de placa y cono de titanio (diámetro 35 mm/2°). La temperatura se mantiene a 37° C con un baño termostático. Para el modo rotacional, la velocidad de cizallamiento varía de 0,1 s⁻¹ a 100 s⁻¹, y el valor de viscosidad de 46 s⁻¹ se mantiene como una característica de la formulación. Para el modo de oscilación, bajo una tensión constante, la velocidad de cizallamiento varía de 0,1 a 100 Pa a 1 Hz a 37° C. Usando la formulación del ejemplo 3, la figura 4 demuestra que la viscosidad final puede ajustarse ajustando la concentración de quitosano.

REIVINDICACIONES

1. Un método para fabricar una composición o una composición farmacéutica que comprende las etapas de:

- i. proporcionar una disolución que comprende quitosano;
- ii. añadir al menos un compuesto iónico en forma de polvo, en el que el compuesto iónico comprende iones Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} o/y Al^{3+} ;
- iii. añadir ácido hialurónico en forma de polvo;
- iv. mezclar los componentes; y
- v. dejar en reposo durante la noche a 4° C dicha composición mezclada,

en el que el quitosano se usa como una disolución madre que consiste en 2,5% (en m/v) de quitosano en ácido clorhídrico 0,1 M, pH 6,5.

2. Una composición que consiste en:

- i. un ácido hialurónico;
- ii. un quitosano; y
- iii. al menos un compuesto iónico,

caracterizada por que que la composición es un hidrogel, y en la que el compuesto iónico comprende iones Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} o/y Al^{3+} , y en la que el hidrogel muestra una elevada homogeneidad, y está **caracterizado por que** la no aparición de agregados, producida mediante un método según la reivindicación 1.

3. Una composición según la reivindicación 2 para un uso médico.

4. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 3 para el uso de tratar una enfermedad o un trastorno oftálmico, tópico, sistémico o intraarticular.

5. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4 para el uso en el tratamiento de patologías de las articulaciones, enfermedades articulares, patologías del ojo, tratamiento de la piel, regeneración de tejidos en un sujeto que lo necesita.

6. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5 para la aplicación tópica, i.v., i.m., s.c., la aplicación a una articulación o al ojo.

7. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6 para el uso como un medio de transporte o/y como un dispositivo médico.

8. Una composición o una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7 para el uso en aplicaciones estéticas, preferiblemente para aplicaciones cosméticas.

9. Una composición según la reivindicación 8, en la que la composición se aplica por sí sola o en combinación con cualquier adyuvante adecuado por vía transdérmica o subdérmica.

10. Una composición según la reivindicación 2, en la que el ácido hialurónico es un hialuronato de sodio, preferiblemente obtenido a partir de una bacteria estreptocócica, más preferiblemente **caracterizada por que** una distribución de masa molecular de aproximadamente 2 a 3000 KDa, preferiblemente de aproximadamente 1300 KDa, o/y en la que el hialuronato de sodio (ácido D-glucurónico/GlcA) está **caracterizado por que** un índice de polidispersión de 1 a 1,6, preferiblemente de 1,07 a 1,55, más preferiblemente es de 1,2, o/y en la que el quitosano es una poli- β -1,4-glucosamina (quitosano) modificada o no modificada obtenida a partir de *Agaricus bisporus*, que preferiblemente está **caracterizada por que** un grado de desacetilación del 45 al 70%, preferiblemente del 50 al 60%, más preferiblemente de aproximadamente 50% de DDA (RMN), o/y en la que el quitosano tiene una distribución de masa molecular de 1 a 2000 KDa, preferiblemente de 100 a 150 KDa, más preferiblemente de 50 a 100 KDa, o de 110 a 130 KDa, más preferiblemente de 120 KDa, aún más preferiblemente de 100 KDa, o/y **caracterizada por que** un índice de polidispersión de 1,1 o mayor, preferiblemente de 1,4 o mayor, más preferiblemente de 1,6 o mayor.

11. Una composición según la reivindicación 2, en la que los compuestos i.) y ii.) están presentes en la composición en una proporción en peso de 1000:1 a 1:2, preferiblemente de 3:2 a 40:1.

12. Una composición según la reivindicación 10 u 11, que además comprende un tampón, preferiblemente en la que el tampón es un tampón de ácido bórico/tetraborato de sodio o un tampón fosfato, preferiblemente en la que la composición tiene un pH de 5,5 a 8,0, preferiblemente de 6 a 7, más preferiblemente 7.

13. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10, 11, o 12 que se formula como una disolución isotónica o ligeramente hipertónica o/y tiene una osmolaridad que varía de 280 a 500 mOsmoles, o/y **caracterizada por** una viscosidad de 0,05-10 Pa·s, preferiblemente de 0,5 a 5 Pa·s, más preferiblemente de 5 Pa·s, medida mediante reometría rotacional con una geometría de cono-placa de diámetro de 35 mm/2° a una velocidad de cizallamiento de 46 s⁻¹, preferiblemente en la que el quitosano se obtiene a partir de un origen no animal, preferiblemente un proceso de fermentación o una extracción a partir de hongos.
14. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10, 11, 12 o 13, en la que la composición es una composición farmacéutica, en la que la composición o la composición farmacéutica es un hidrogel híbrido, o en la que la composición o la composición farmacéutica es fundamentalmente un hidrogel transparente, preferiblemente en la que la composición mantiene la transparencia o/y su pH después de un ciclo de esterilización con autoclave/vapor, preferiblemente en la que este ciclo está **caracterizado por** una temperatura de 121° C y una duración de preferiblemente 10 min.
15. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 10, 11, 12, 13 o 14, en la que la composición o la composición farmacéutica está fundamentalmente exenta de agregados de ácido hialurónico y quitosano, preferiblemente en la que la composición o la composición farmacéutica contiene menos del 10%, preferiblemente menos del 5%, más preferiblemente menos del 1% y lo más preferiblemente menos del 0,01% agregados visibles, tal como se observa mediante microscopía óptica con un aumento bajo (10x), preferiblemente en la que el ácido hialurónico se estabiliza frente a la agregación/para prevenir la agregación con otros componentes de la formulación o la precipitación con ácido hialurónico.
16. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 10, 11, 12, 13, 14 o 15, que comprende además uno o más compuestos farmacéuticamente activos, preferiblemente en la que el compuesto activo se selecciona del grupo que consiste en fármacos, agentes citotóxicos, proteínas, hormonas, ácidos nucleicos, vectores, células o/y lípidos, preferiblemente en la que el compuesto activo se selecciona de fármacos antioxidantes, fármacos antiinflamatorios, por ejemplo, ibuprofeno, fármacos para oftalmología, moléculas que estimulan la adhesión, la diferenciación o el crecimiento de células.
17. Una composición o una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16, en la que la composición o la composición farmacéutica tiene una viscosidad de 0,05-10 Pa·s, preferiblemente de 0,5 a 5 Pa·s, más preferiblemente de 5 Pa·s, medida mediante reometría rotacional con una geometría de cono-placa de diámetro de 35 mm/2° a una velocidad de cizallamiento de 46 s⁻¹.
18. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 17, en la que la composición está **caracterizado por** la no aparición de agregados visibles, tal como se mide preferiblemente mediante la medición de la absorbancia y la turbidez, o más preferiblemente mediante un análisis microscópico visible.









