

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 029 221**

51 Int. Cl.:

A61L 27/26	(2006.01) A61Q 19/08	(2006.01)
A61L 27/50	(2006.01)	
A61L 27/52	(2006.01)	
A61L 27/54	(2006.01)	
A61K 9/00	(2006.01)	
A61K 47/36	(2006.01)	
A61K 8/39	(2006.01)	
A61K 8/42	(2006.01)	
A61K 8/49	(2006.01)	
A61K 8/73	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.06.2022** **PCT/EP2022/068056**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.01.2023** **WO23275241**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.06.2022** **E 22740376 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.03.2025** **EP 4362994**

54 Título: **Composición de ácido hialurónico reticulado con anestésicos locales**

30 Prioridad:

01.07.2021 EP 21183109

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

23.06.2025

73 Titular/es:

BIOPOLIMERI S.R.L. (100.00%)
Via G. Oberdan, 11
72019 San Vito dei Normanni (BR), IT

72 Inventor/es:

DE BENEDICTIS, VINCENZO MARIA y
RAMIRES, PIERA ANGELA

74 Agente/Representante:

CONTRERAS PÉREZ, Yahel

ES 3 029 221 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

Composición de ácido hialurónico reticulado con anestésicos locales

- 5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente europea 21183109.4 presentada el 1 de julio de 2021.

La presente invención pertenece al campo de las composiciones de ácido hialurónico y, particularmente, a las composiciones que contienen ácido hialurónico reticulado con poliglicerol poliglicidil éter y agentes anestésicos locales.

10

Antecedentes de la técnica

- Un anestésico local (AL) es un medicamento que provoca la ausencia de la sensación de dolor en un lugar específico del cuerpo sin pérdida de la conciencia, a diferencia de un anestésico general. En particular, los AL interrumpen la conducción neural mediante la inhibición del flujo (absorción) de iones sodio. En la mayoría de los casos, esto se produce tras su difusión a través de la membrana neural en el axoplasma, donde entran en los canales de sodio e impiden que adopten un estado activo o abierto.

- Los agentes anestésicos locales están formados por un grupo lipófilo (anillo aromático), un grupo hidrófilo (amina terciaria) y un grupo de enlace intermedio (éster o amida). Se sabe que cada uno de estos grupos (componentes) confiere propiedades distintas a la molécula anestésica en términos de solubilidad en lípidos y agua, lo que es importante para tener una duración de acción eficaz y un tiempo de comienzo de acción corto (es decir, el intervalo de tiempo entre el final de la administración total del anestésico local y el bloqueo sensorial o motor completo). Por un lado, parece que el anillo aromático mejora la liposolubilidad del AL, que puede mejorarse aún más mediante sustituciones alifáticas en el grupo amino. Una mayor liposolubilidad mejora la difusión a través de las vainas nerviosas, así como las membranas neurales de los axones individuales que comprenden un tronco nervioso. Esta propiedad se ha correlacionado con la potencia anestésica del principio activo puesto que una mayor porción biodisponible de una dosis administrada puede entrar en las neuronas. Aparte, por otro lado, el grupo amina puede existir como amina terciaria neutra (no ionizada) o como sal cuaternaria cargada positivamente (ionizada). La forma neutra del anestésico local, que tiene la amina terciaria no ionizada, es liposoluble y, por lo tanto, es la forma biodisponible (y, por lo tanto, la forma activa). En cambio, la forma cargada positivamente (que tiene la sal de amonio cuaternario) es soluble en agua y, por lo tanto, no es biodisponible (es decir, no es activa). Sin embargo, parece que la forma cargada positivamente (incluso sin ser la forma activa biodisponible) puede participar activamente en el mecanismo de acción de los anestésicos, permitiendo que los cationes anestésicos se unan más firmemente a las proteínas ubicadas en los sitios receptores, ampliando la duración de la acción del anestésico local.

- Normalmente, los anestésicos locales se administran en forma de una forma farmacéutica inyectable estéril que contiene una sal del AL (tal como la sal de clorhidrato) y un hidrogel hecho de un polisacárido reticulado (tal como el ácido hialurónico). Estos hidrogeles que contienen sales anestésicas locales se administran a través de finas agujas, especialmente cuando se usan como cargas con fines estéticos o para el tratamiento de la osteoartritis.

- Lamentablemente, estas formas farmacéuticas inyectables tienen algunos inconvenientes. Por un lado, la sal (clorhidrato) del anestésico local contenida en el hidrogel se encuentra principalmente en su forma soluble en agua cargada positivamente (es decir, la forma no activa del anestésico local) evitando así la precipitación de la forma liposoluble al pH fisiológico del hidrogel (es decir, la forma activa del anestésico local), aumentando de forma indeseable el tiempo de comienzo de acción del AL y comprometiendo la eficacia del anestésico local mediante la reducción de la capacidad de penetración del AL en las neuronas. Además, por otro lado, los ácidos hialurónicos reticulados (hidrogeles) que tienen un alto grado de reticulación presentan una propiedad de flujo deficiente inadecuado. De hecho, el porcentaje de reticulación contribuye positivamente a la elasticidad y viscosidad del hidrogel pero compromete las propiedades de extrudibilidad a través de finas agujas, provocando dolor y también una reacción inflamatoria como respuesta a la lesión mecánica en el tejido (provocada por la penetración de la aguja durante la inyección y por las fuerzas que el hidrogel viscoelástico ejerce sobre los tejidos circundantes). Por otra parte, el ácido hialurónico (AH) (reticulado) también puede ser degradado de forma natural en el organismo por las especies reactivas del oxígeno (ROS), lo que conlleva a una reacción inflamatoria transitoria adicional. Por todos los motivos anteriores, los hidrogeles reticulados se formulan incorporando anestésicos locales en su composición y, lo más importante, los anestésicos locales deben actuar en poco tiempo tras la inyección del hidrogel.

- Por consiguiente, como se ha descrito en el presente documento anteriormente, numerosos factores pueden alterar la estabilidad de la forma neutra del anestésico, contribuyendo al efecto terapéutico anestésico y, particularmente, al tiempo de comienzo de acción y a la duración del efecto terapéutico. Estos factores pueden estar relacionados bien con las características del anestésico local (tales como su estructura química) o bien con la característica del hidrogel de ácido hialurónico (composición química, grado de reticulación y presencia de compuestos disueltos adicionales, osmolaridad y/o fuerza iónica), la osmolaridad y/o fuerza iónica del medio en el que se disuelve el anestésico local (es decir, el hidrogel reticulado), así como el método de esterilización usado para su administración.

WO2021064006 divulga poliglicerol poliglicidil éteres de (PPE) hiperramificados que tienen un peso molecular de 750 a 15000 Da, y un peso equivalente epoxi de 183 a 7.000 g/eq. También divulga hidrogeles de polisacáridos reticulados obtenibles mediante la reticulación de los polisacáridos con los poliglicerol poliglicidil éteres hiperramificados. La preparación de ácidos hialurónicos reticulados con PPE que se describe en la sección 2.1.1.1 de los ejemplos incluye una etapa c en la que el ácido hialurónico reticulado con PPE se lava con solución acuosa ácida de 48 a 120 horas para eliminar los materiales sin reaccionar y los subproductos, neutralizar el catalizador alcalino y restaurar el pH del ácido hialurónico reticulado con PPE a 6,5-7,4. Este documento no se pronuncia sobre la presencia de poligliceroles libres en el hidrogel.

- 10 Se han descrito en el estado de la técnica varias estrategias para el desarrollo de hidrogeles estables de ácido hialurónico reticulado que contienen agentes anestésicos. En particular, se han descrito en el estado de la técnica hidrogeles de ácido hialurónico reticulado con 1,4-butanediol diglicidil éter (BDDE) y agentes anestésicos que tienen propiedades reológicas mejoradas (propiedades físicas). De hecho, composiciones acuosas inyectables de hidrogel que contienen ácido hialurónico reticulado con 1,4-butanediol diglicidil éter (BDDE) y agentes anestésicos y uno o más polioles elegidos entre glicerol, sorbitol, propilenglicol, manitol, eritritol, xilitol, maltitol y lactitol mostraron una mayor estabilidad a la degradación de un gel a base de ácido hialurónico *in vivo* (degradación enzimática por hialuronidasas, degradación por radicales libres, degradación térmica a 37 °C) mejorando la vida útil del hidrogel. Sin embargo, todos los documentos no se pronuncian acerca de la composición del hidrogel (poligliceroles libres) que tiene el efecto de aumentar la cantidad de la forma activa del anestésico en el interior del hidrogel en el efecto terapéutico del agente anestésico contenido en él, y aún menos en el efecto en la liberación del principio activo (es decir, el anestésico local) del mismo y su posterior efecto en el tiempo de comienzo de acción del agente anestésico.

- De manera alternativa, se han descrito varias estrategias en el estado de la técnica para aumentar la eficacia y, particularmente, para reducir el tiempo de comienzo de acción del agente anestésico local. Algunos de estos métodos se basan en el cambio de la sal del agente anestésico local (cambio de la sal clorhídrica por el contraión bicarbonato) y/o el uso de un pH superior a 8. Lamentablemente, estos métodos son poco aplicables para la preparación de dispositivos médicos inyectables permanentes o semipermanentes que contienen ácidos hialurónicos. Otras estrategias se centraron en la adición de sustancias tales como agentes tensioactivos o manitol que aumentan la permeabilidad del AL a través de la barrera lipoproteica del nervio (es decir, potenciadores de la permeación del nervio). Sin embargo, también se han descrito en la técnica los efectos secundarios asociados al uso de estos potenciadores de la permeación del nervio. En particular, la principal desventaja del uso de manitol es que el manitol se usa en forma de una solución hiperosmolar que puede provocar efectos adversos graves (como edema) debido a la retirada de agua o fluidos en el lugar de la inyección. Por lo tanto, el uso de la solución hiperosmolar de manitol no está indicado en aplicaciones a largo plazo, y no se recomienda (es inaceptable) en forma de solución hiperosmolar para aplicaciones osteoarticulares, intradérmica o intraocular.

- Por lo tanto, a partir de lo que se sabe en la técnica, sigue existiendo la necesidad de proporcionar un ácido hialurónico reticulado que tenga una estabilidad y unas propiedades reológicas adecuadas y que contenga uno o más agentes anestésicos con una biodisponibilidad mejorada; particularmente con un efecto terapéutico mejorado provocado por la reducción del tiempo de comienzo de acción.

Sumario de la invención

- Los inventores de la presente invención han proporcionado sorprendentemente una composición segura y estable que contiene anestésico local y ácido hialurónico reticulado y que permite potenciar la liberación de la forma activa del anestésico local contenido en la misma, dando lugar a un efecto terapéutico rápido (reducción del tiempo de comienzo de la acción). En oposición al estado de la técnica, en el que la forma no activa del anestésico local se libera principalmente del hidrogel. En particular, la composición de ácido hialurónico reticulado que comprende una concentración específica de poligliceroles libres y un ácido hialurónico reticulado con PPE que tiene propiedades mecánicas adecuadas, una baja velocidad de degradación enzimática/oxidativa y una biocompatibilidad adecuada para ser usada en aplicaciones *in vivo* sin provocar los efectos secundarios indeseables asociados a su administración, particularmente a su aplicación inyectable. En particular, los inventores han descubierto que la combinación de un ácido hialurónico reticulado con poliglicerol diglicidil éter (PPE) y la concentración específica de poligliceroles libres descritas en la presente invención permite reducir el dolor y los efectos secundarios indeseables inflamatorios asociados a la administración de las composiciones de AH, puesto que se consigue una reducción del comienzo de acción del agente anestésico. Este corto comienzo de acción está asociado a la acción más rápida de los anestésicos locales, provocada por una mayor biodisponibilidad de la forma activa del anestésico local pero sin comprometer las propiedades mecánicas del ácido hialurónico.
- 60 Sin quedar ligados a teoría alguna, los inventores atribuyen la mayor biodisponibilidad del anestésico local (aumento del porcentaje de la forma activa del anestésico local) a una combinación de la concentración controlada de los poligliceroles libres, su peso molecular junto con la estructura del reticulante PPE que también afecta positivamente a la liberación cinética del anestésico local desde el hidrogel a los tejidos circundantes. Adicionalmente, las propiedades

mecánicas y la resistencia a la degradación del ácido hialurónico reticulado con PPE respecto a un efecto combinado de la estructura del reticulante junto con sus propiedades cohesivas derivadas de las interacciones (covalentes y no covalentes) entre el AH y el PPE. En particular, la interacción del PPE con el AH crea una densa red tridimensional de AH que mantiene intacta la matriz del hidrogel y limita la capacidad de la enzima para infiltrarse en el implante y 5 degradar la red 3D incluso con un grado de reticulación bajo.

Como se demuestra en la sección experimental, la composición de la presente invención permite tener en el interior de la red 3D de AH un valor pKa del anestésico local más cercano al pH fisiológico, dando como resultado tener en el interior de la red 3D de AH una mayor concentración de la forma activa (es decir, la forma liposoluble al pH fisiológico) 10 del anestésico local que la concentración teórica predicha por la ecuación de Henderson-Hasselbalch a un determinado pH fisiológicamente aceptable. Esta mayor cantidad de la forma activa del anestésico local en el interior se traduce a su vez en la reducción del tiempo de comienzo de acción. De hecho, se demuestra que el valor pKa experimental del anestésico local ubicado en el interior de la composición 3D de AH de la presente invención es inferior al valor pKa teórico.

15 Por otra parte, los inventores también han demostrado una fuerte correlación entre este comienzo de acción rápido *in vivo* y la eficacia de los anestésicos descritos en la presente invención, con la red 3D de AH, junto con la presencia de una concentración específica de poligliceroles libres.

20 Sin quedar ligados a teoría alguna, parece que la composición de la invención y, particularmente, el efecto sinérgico de la combinación del reticulante PPE y los poligliceroles libres confiere el cambio en la biodisponibilidad del anestésico local en el interior del hidrogel y la rápida difusión del fármaco desde el mismo.

En particular, parece que el carácter anfifílico del PPE usado como reticulante, su peso molecular y el grado de 25 reticulación, en combinación con el carácter anfifílico de los poligliceroles libres derivados de la apertura del anillo epoxi hidrolítico del reticulante PPE sin reaccionar, así como de la hidrólisis natural del reticulante unido a la cadena de ácido hialurónico, confiere una inesperada estabilización de la forma activa del anestésico en el interior de la matriz. Esto provoca un incremento cuantitativo en el porcentaje de la forma biodisponible (forma B) del agente anestésico en comparación con el porcentaje predicho por la ecuación termodinámica y que se encuentra en los productos conocidos 30 en el estado de la técnica (es decir, el valor pKa termodinámico disminuye del 2,5 % al 10 % de su valor predicho); al mismo tiempo, la estructura tridimensional del AH reticulado contribuye a una liberación cinética más rápida del agente anestésico de la matriz reticulada en 3D del AH, dando lugar a una rápida difusión de la forma activa del fármaco (acorte de su comienzo de acción).

35 Por último, la composición de la invención que comprende el AH reticulado con PPE, la concentración específica de poligliceroles libres y los agentes anestésicos presenta buenas propiedades de flujo. Aparte, como se ha mencionado anteriormente, la inyección de la composición de la presente invención produce una baja o nula inflamación y percepción del dolor por parte de los pacientes durante y después de su aplicación.

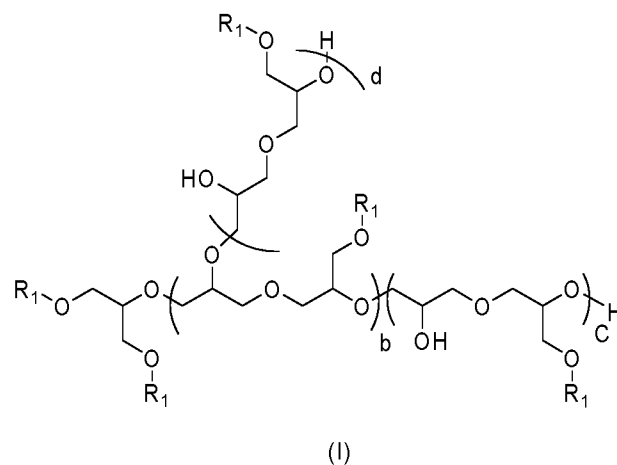
40 En resumen, la composición de la presente invención tiene (a) tal carácter anfifílico del reticulante PPE hiperramificado, (b) tal concentración específica de fragmentos de polioles libres hiperramificados, y (c) tal peso molecular de los polioles libres hiperramificados que la combinación de los mismos permite aumentar la forma activa liposoluble del anestésico local en el interior de la composición (es decir, tener una forma del anestésico local superior a la concentración molar esperada de acuerdo con la ecuación de Handerson-Hasselbach). A su vez, la matriz 3D 45 reticulada de la composición de hidrogel de la presente invención (es decir, la propiedad física) proporciona una liberación cinética más rápida de una mayor cantidad de la forma activa liposoluble del anestésico local; dando como resultado un rápido comienzo de acción del anestésico local. La invención se expone en el juego de reivindicaciones adjunto.

50

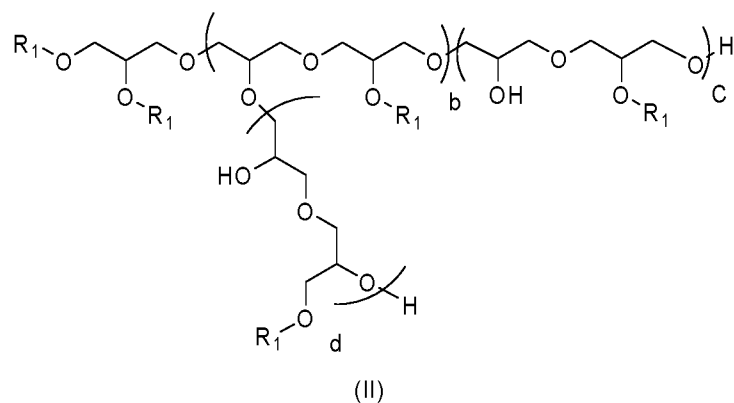
55

60

Por tanto, el primer aspecto de la invención se refiere a una composición según la reivindicación 1, que comprende:
A) uno o más ácidos hialurónicos reticulados seleccionados del grupo que consiste en uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I);

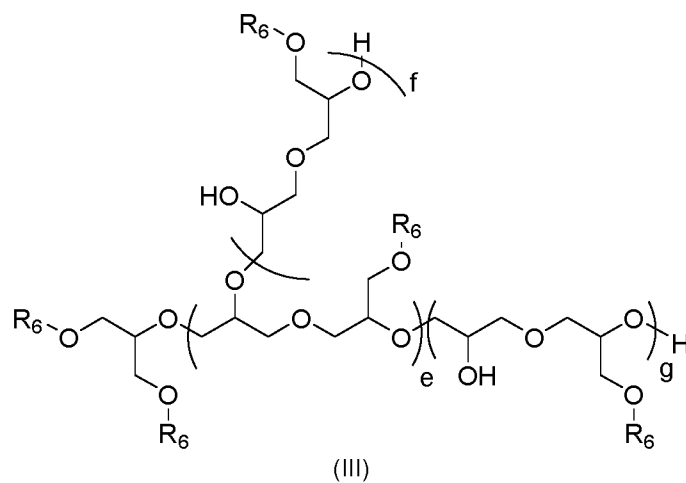


uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II);

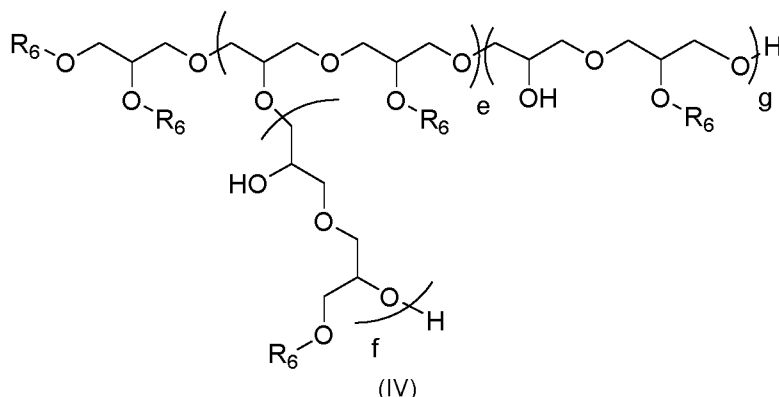


y una mezcla de uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II);

B) uno o más poligliceroles seleccionados del grupo que consiste en uno o más poligliceroles de fórmula (III);



uno o más poligliceroles de fórmula (IV);



y una mezcla de uno o más poligliceroles de fórmula (III) y uno o más poligliceroles de fórmula (IV);

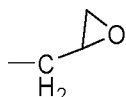
C) uno o más agentes anestésicos locales o una sal de los mismos; y

D) opcionalmente, uno o más excipientes o portadores aceptables;

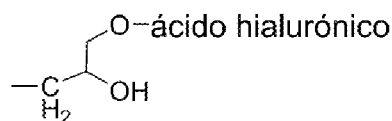
donde:

cada R₁ se selecciona independientemente del grupo que consiste en R₂, R₄ y R₅;

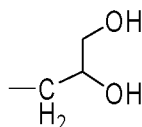
R₂



R₄ es



R₅ es



cada R₆ se selecciona independientemente del grupo que consiste en R₅; b es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1 a 70; c es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70; d es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70; e es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1 a 50;

f es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 50; g es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 50; los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) o fórmula (II) tienen un porcentaje de reticulación de 0,030 a 0,900 %; y los poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) tienen un peso molecular promedio en peso (M_w) de 240 a 3700 Da medido por cromatografía de exclusión por tamaños acoplada con detector UV-visible y de masas (SEC/UV/MS); con la condición de que: en los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) o fórmula (II) al menos un R₁ es R₄; y en los poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV), si R₁ está presente, entonces R₁ es distinto de R₄.

Las composiciones que comprenden ácido hialurónico reticulado se obtienen mediante el procedimiento aquí descrito. El segundo aspecto de la invención se refiere a un procedimiento para la preparación del primer aspecto de la invención.

El tercer aspecto de la invención se refiere a la composición del primer aspecto de la invención para su uso en terapia.

El cuarto aspecto de la invención se refiere al uso de la composición del primer aspecto de la invención en cosmética; particularmente como relleno dérmico.

Y el quinto aspecto de la invención se refiere al uso de la composición del primer aspecto de la invención como portador; particularmente como sistema de administración de fármacos.

Descripción detallada de la invención

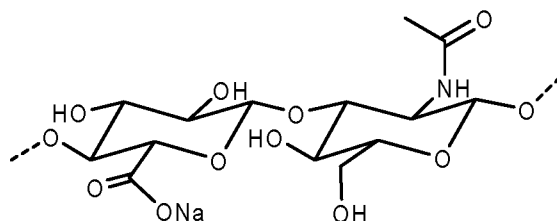
Todos los términos del presente documento como se usan en la presente solicitud, a menos que se indique de otro modo, se entenderán en su significado habitual, como se conoce en la técnica. Otras definiciones más específicas de los términos como se usan en la presente solicitud son como se establecen a continuación y tienen por objeto aplicarse de manera uniforme a lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones a menos que una definición expuesta expresamente de otro modo proporcione una definición más amplia.

Para los fines de la presente invención, cualquier intervalo dado incluye los extremos tanto inferior como superior del intervalo. Los intervalos dados, tales como temperaturas, tiempos, pesos y similares, se deben considerar aproximados, a menos que se indique específicamente. El término "aproximadamente" o "alrededor de", como se usa en el presente documento, se refiere a un intervalo de valores $\pm 10\%$ de un valor especificado. Por ejemplo, la expresión "aproximadamente 0,5" o "alrededor de 0,5" incluye $\pm 10\%$ de 0,5, es decir, de 0,45 a 0,55.

La expresión "porcentaje (%) en peso" se refiere al porcentaje de cada ingrediente en relación con el peso total de la composición.

Como se ha descrito anteriormente, el primer aspecto de la presente invención se refiere a una composición que comprende: a) uno o más ácidos hialurónicos reticulados seleccionados del grupo que consiste en uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I); uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II); y una mezcla de uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II). En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I). En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II). En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) una mezcla de uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II).

Para el fin de la invención, la expresión "ácido hialurónico", "hialuronano" y la abreviatura "AH" tienen el mismo significado y se usan indistintamente. Se refieren a un glicosaminoglicano (GAG) aniónico no sulfatado que tiene un polisacárido lineal de alto peso molecular que consiste en monómeros repetidos de ácido D-glucurónico y N-acetil-D-glucosamina, unidos mediante enlaces glucosídicos alternos β -(1 $\rightarrow$ 4) y β -(1 $\rightarrow$ 3). Su estructura química corresponde a la siguiente fórmula:



Para el fin de la presente invención, la expresión "ácido hialurónico" también abarca su sal fisiológica aceptable tal como sal farmacéutica o cosméticamente aceptable de ácido hialurónico. En una realización, el polisacárido reticulado de la presente invención es uno donde el polisacárido es una sal farmacéutica o cosméticamente aceptable de ácido hialurónico. No hay limitación sobre el tipo de sal de ácido hialurónico que se puede usar, siempre que sean farmacéutica o cosméticamente aceptables cuando se usen con fines terapéuticos o cosméticos. El ácido hialurónico y una sal del mismo pueden diferir en algunas propiedades físicas, pero son equivalentes para los fines de la presente invención y las propiedades del ácido hialurónico respetuosas para la piel son extensibles a una sal farmacéutica o cosméticamente aceptable, en particular a su sal de sodio (o hialuronato de sodio) y sal de potasio (hialuronato de potasio). La expresión "sal fisiológicamente aceptable" se refiere a una sal fisiológicamente tolerada por el paciente (tal como los mamíferos, incluyendo seres humanos). Particularmente, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a la sal apropiada para su uso en tecnología farmacéutica para la preparación de composiciones para uso médico y, las expresiones "sal cosméticamente aceptable" o "sal dermatológicamente aceptable" usadas indistintamente en el presente documento se refiere a la sal apropiada para su uso en contacto con la piel humana sin toxicidad, incompatibilidad, inestabilidad, respuesta alérgica inapropiada, entre otros. En particular, la expresión "sal farmacéutica o cosméticamente aceptable" incluye sales de uso común tales como, por ejemplo, sales de metales alcalinos. La preparación de sales farmacéuticamente aceptables de ácido hialurónico puede llevarse a cabo mediante métodos conocidos en la técnica. Los ejemplos no limitantes de sales farmacéutica o cosméticamente aceptables de ácido hialurónico apropiadas para la presente invención incluyen sales inorgánicas tales como hialuronato de sodio, hialuronato de magnesio, hialuronato de potasio, hialuronato de cinc y hialuronato de cobalto, así como sales orgánicas tales como hialuronato de tetrabutilamonio. En una realización, la sal farmacéutica o cosméticamente aceptable de

ácido hialurónico es una sal de un metal alcalino seleccionado de sal de sodio (CAS N.º: 9067-32-7) o sal de potasio (CAS N.º: 31799-91-4).

En una realización, la composición de la invención es una donde la concentración del ácido hialurónico en el ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) o fórmula (II) es de 1 a 50 mg/ml; particularmente de 10 a 30 mg/ml. Para el fin de la presente invención, ya que la densidad de las soluciones es cercana a 1 (1ml = 1g), por lo tanto, la concentración expresada como mg/ml es intercambiable con mg/g. La concentración del ácido hialurónico puede medirse por cualquier método apropiado descrito en el estado de la técnica. En la presente invención, la concentración del ácido hialurónico se mide por medición por gravimetría del residuo seco obtenido tras la deshidratación del hidrogel en horno ventilado a 105 °C durante un tiempo adecuado.

En una realización, la composición de la invención es una donde el peso molecular del ácido hialurónico del ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) o fórmula (II) es de 100 a 3000 kDa medido por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC); particularmente de 250 a 2000 kDa.

El ácido hialurónico de la presente invención es un ácido hialurónico "reticulado". El término "reticulado" se refiere a un ácido hialurónico que tiene una red de reticulación tridimensional donde la red está formada por un ácido hialurónico de partida que ha sido colapsado por uno o más agentes de reticulación. El término "reticulación" se refiere en el campo de la ciencia de los polímeros al uso de enlaces cruzados para promover una diferencia en las propiedades físicas de los polímeros (ácido hialurónico). El término "reticular" se refiere a los enlaces que se forman por la apertura del anillo epóxido del agente de reticulación de la presente invención por el grupo hidroxilo del ácido hialurónico. Las expresiones "reticulante" o "agente de reticulación" que se usan en el presente documento indistintamente se refieren a un compuesto que tiene la capacidad de reticular una o más cadenas de ácido hialurónico.

Las expresiones "porcentaje de reticulación", "porcentaje (%) de reticulación", "grado de reticulación" y la abreviatura "G.R." tienen el mismo significado y se usan indistintamente. Se refieren a la relación entre las unidades monoméricas de ácido hialurónico modificado reticulado y las unidades monoméricas de ácido hialurónico no modificado, expresada en porcentaje. Habitualmente, la medición del grado de reticulación (G.R.) de los materiales podría evaluarse mediante diferentes métodos bien conocidos en el estado de la técnica. Algunos métodos son directos, tales como ¹H-RMN o el análisis cuantitativo por GPC de los fragmentos del polímero tras digestión enzimática. Otros métodos son indirectos, por mediciones reológicas, por compresión o por ensayos oscilatorios. Normalmente todos estos métodos son comparativos y permiten distinguir diferentes grados de reticulación en el interior de la misma familia de polímeros. En la presente invención, el valor del grado de reticulación se calcula matemáticamente a partir del valor de G' obtenido por mediciones reológicas mediante la siguiente ecuación 1:

donde:

(Ec. 1)

$$G.R. (\%) = \frac{100 * MW_{\text{unidad de rep.}}}{M_e}$$

MW_{unidad de rep.} es de 401 Da, que es el peso molecular de la unidad de repetición monomérica hialurónica, M_e se calcula matemáticamente mediante la fórmula inversa de la siguiente ecuación 2:

(Ec. 2)

$$G' \approx \frac{R \cdot T \cdot c}{M_e} \left(1 - 2 \frac{M_e}{M_n} \right)$$

donde:

G' se obtiene experimentalmente mediante mediciones reológicas usando un reómetro rotacional,

R·T es la energía térmica,

c es la concentración del ácido hialurónico,

M_n es la masa molecular promedio en número del ácido hialurónico (véase. S. C. De Smedt, *et al.* "Viscoelastic and transient network properties of hyaluronic acid as a function of the concentration", Biorheology, 1993. vol. 30(1), págs. 31–41).

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: A) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I), o como alternativa de fórmula (II) tienen un porcentaje de reticulación de 0,03 % a 0,9 %; particularmente, del 0,045 al 0,077 %. Para el fin de la presente solicitud, el porcentaje de reticulación se mide a partir del valor de G' obtenido mediante mediciones reológicas usando la ecuación 1 definida anteriormente.

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) una mezcla de uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II). Todas las

realizaciones mencionadas anteriormente para las composiciones que comprenden uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) o como alternativa de fórmula (II), también se aplican a la composición que comprende una mezcla de uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II).

5

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) uno o más ácidos hialurónicos reticulados seleccionados del grupo que consiste en uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I); uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II); y una mezcla de uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II); donde los uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) o de fórmula (II) son obtenibles usando uno o más agentes de reticulación de poliglicerol diglicidil éter (PPE).

10

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I), o como alternativa de fórmula (II) obtenidos mediante el uso del reticulante PPE que tiene un EEW promedio de 100 a 7000 g/eq; particularmente de 100 a 600 g/eq medido por valoración rápida asistida por ultrasonificación con HCl. La expresión "peso equivalente de epoxi", "EEW promedio" y la abreviatura "EEW" tienen el mismo significado y se usan indistintamente. El EEW es el peso del agente de reticulación, en gramos, que contiene un equivalente gramo de epoxi. El EEW se refiere al contenido de grupos epoxi presentes en un gramo de los agentes de reticulación descritos en la presente invención y expresado en g/eq. El EEW se midió experimentalmente usando la valoración cuantitativa asistida por ultrasonificación con HCl para la determinación rápida de epóxidos descrita en el estado de la técnica (cf. He, Z., *et al.*, "Ultrasonication-assisted rapid determination of epoxide values in polymer mixtures containing epoxy resin". Analytical Methods, 2014, vol. 6(12), págs. 4257-4261).

15

20

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I), o como alternativa de fórmula (II) obtenidos mediante el uso del reticulante PPE que tiene un Mw de 204 a 15.000 Da, particularmente, de 204 a 3500 Da, medido por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC). Las expresiones "peso molecular", "peso molecular promedio en peso", "masa molar promedio en peso", "masa molar promedio en masa", "Mw promedio" y la abreviatura "M_w" tienen el mismo significado y se usan indistintamente. La masa molar promedio en masa se calcula mediante la siguiente ecuación:

30

$$M_w = \frac{\sum_i N_i M_i^2}{\sum_i N_i M_i}$$

donde N_i es el número de moléculas de masa molecular M_i. La masa molecular promedio en masa puede determinarse por dispersión de luz estática, dispersión de neutrones de ángulo pequeño, dispersión por rayos x, y velocidad de sedimentación. En la presente aplicación, el Mw se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaños (SEC).

35

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) uno o más ácidos hialurónicos reticulados seleccionados del grupo que consiste en uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I); uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II); y una mezcla de uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II); donde los uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) o de fórmula (II) son obtenibles usando como reticulante poliglicerol diglicidil éter (PPE) que tiene un Mw de 204 a 15.000 g/mol; y un EEW de 100 a 7000 g/eq. En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) uno o más ácidos hialurónicos reticulados seleccionados del grupo que consiste en uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I); uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II); y una mezcla de uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II); donde los uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) o de fórmula (II) son obtenibles usando como reticulante poliglicerol diglicidil éter (PPE) que tiene un Mw de 204 a 3500 g/mol; y un EEW de 100 a 600 g/eq.

40

45

50

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I), o como alternativa de fórmula (II) tienen un porcentaje de reticulación de 0,03 % a 0,9 %; y se obtienen usando el reticulante PPE que tiene un Mw de 204 a 15.000 g/mol; y un EEW de 100 a 7000 g/eq.

55

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I), o como alternativa de fórmula (II) tienen un porcentaje de reticulación de 0,045 % a 0,077 %; y se obtienen usando el reticulante PPE que tiene un Mw de 204 a 3500 g/mol; y un EEW de 100 a 600 g/eq.

60

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: a) uno o más ácidos hialurónicos reticulados seleccionados del grupo que consiste en uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I); uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II); y una mezcla de uno o más ácidos hialurónicos reticulados

de fórmula (I) y uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II); donde la cantidad de R_2 es inferior a 2 ppm sobre el peso total del ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) y de fórmula (II). La cantidad de R_2 se mide experimentalmente usando la valoración cuantitativa asistida por ultrasonificación con HCl para la determinación rápida de epóxidos descrita en He, Z., *et al.*, "Ultrasonication-assisted rapid determination of epoxide values in polymer mixtures containing epoxy resin". Analytical Methods, 2014, vol. 6(12), págs. 4257-4261.

Como se ha descrito anteriormente, el primer aspecto de la presente invención se refiere a una composición que comprende: B) uno o más poligliceroles seleccionados del grupo que consiste en uno o más poligliceroles de fórmula (III); uno o más poligliceroles de fórmula (IV); y una mezcla de uno o más poligliceroles de fórmula (III) y uno o más poligliceroles de fórmula (IV). En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: B) uno o más poligliceroles de fórmula (III). En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: B) uno o más poligliceroles de fórmula (IV).

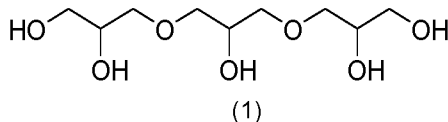
Para el fin de la presente invención, los poligliceroles de fórmula (III) o los poligliceroles de fórmula (IV) también pueden denominarse poligliceroles "libres" de fórmula (III) o poligliceroles "libres" de fórmula (IV), respectivamente.

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: B) uno o más poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) obtenibles usando uno o más agentes de reticulación de poliglicerol diglicidil éter (PPE) que tienen un peso molecular promedio en peso (M_w) de 240 a 3700 Da medido por cromatografía de exclusión por tamaños acoplada con detector UV-visible y de masas (SEC/UV/MS); particularmente, de 314 a 1129 Da.

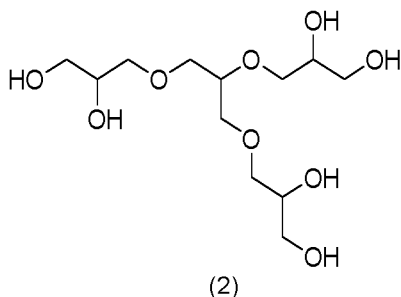
Según la invención, la composición tiene una concentración de poligliceroles de fórmula (III) o de fórmula (IV) en la composición de 0,45 a 25 mg/ml; particularmente de 2 a 20 mg/ml. La concentración de los poligliceroles de fórmula (III) o de fórmula (IV) puede medirse por cualquier método apropiado descrito en el estado de la técnica. En la presente invención, la concentración de los poligliceroles de fórmula (III) o de fórmula (IV) se mide mediante cromatografía de exclusión por tamaños acoplada con detector de UV-visible y de masas (SEC/UV/MS).

En una realización, la composición de la invención es una donde los uno o más poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) se seleccionan del grupo que consiste en:

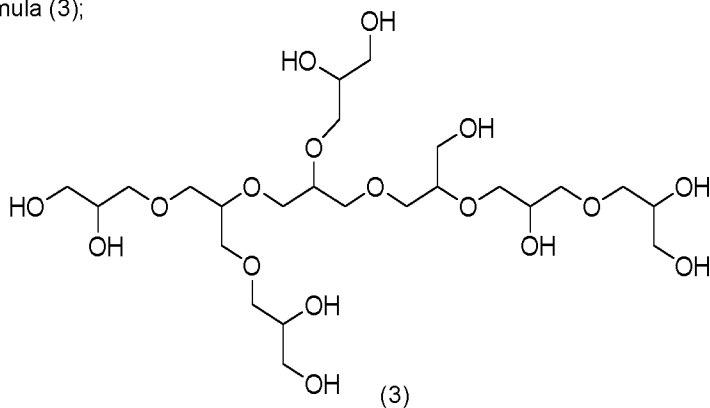
un compuesto de fórmula (1);



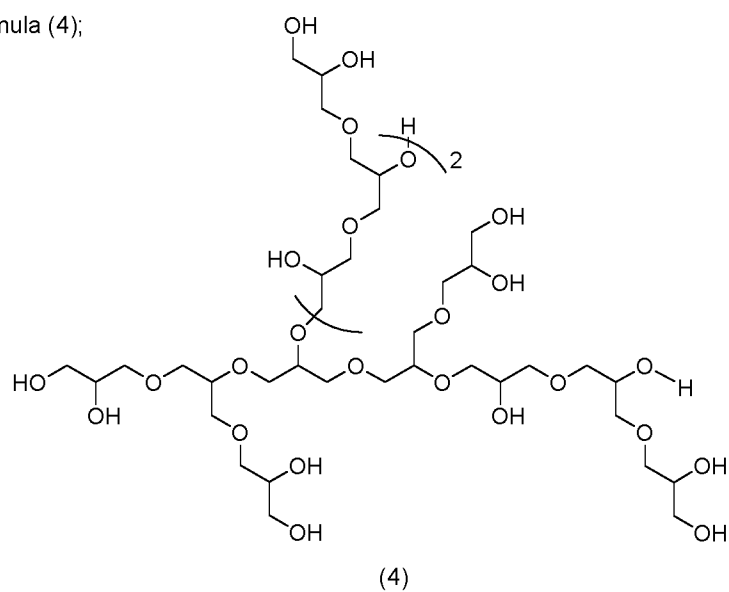
un compuesto de fórmula (2);



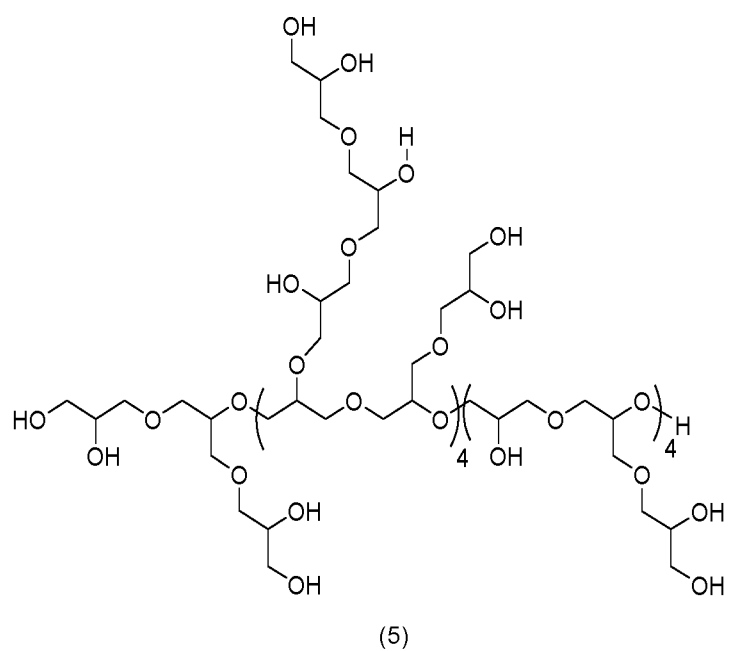
un compuesto de fórmula (3);



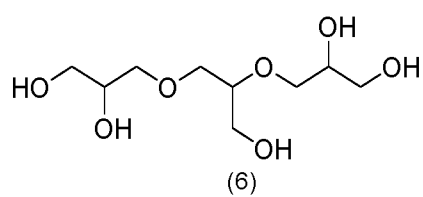
un compuesto de fórmula (4);



un compuesto de fórmula (5);



un compuesto de fórmula (6);



y una mezcla de los mismos.

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención comprende: B) una mezcla de uno o más poligliceroles de fórmula (III) y uno o más poligliceroles de fórmula (IV). Todas las realizaciones mencionadas anteriormente para las composiciones que comprenden B) uno o más poligliceroles de fórmula (III) o como alternativa
 5 uno o más poligliceroles de fórmula (IV) se aplican también para la composición que comprende una mezcla de uno o más poligliceroles de fórmula (III) y uno o más poligliceroles de fórmula (IV).

Como se ha descrito anteriormente, el primer aspecto de la presente invención se refiere a una composición que comprende: C) una cantidad efectiva de uno o más agentes anestésicos locales o una sal de los mismos. El término
 10 "anestésico" se refiere a un agente que provoca la pérdida de sensación en un humano u otro mamífero con o sin pérdida de conciencia. Más particularmente, la expresión "anestésico local" se refiere a un agente anestésico que induce la anestesia local mediante la inhibición reversible de la excitación y/o conducción del nervio periférico. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad efectiva" se refiere a una cantidad de uno o más agentes anestésicos locales que produce el efecto anestésico mencionado anteriormente, p. ej., pérdida parcial o total
 15 de la sensación, inhibición de la percepción sensorial o inhibición de la función motora.

Los anestésicos locales adecuados para su uso en la presente invención incluyen, pero sin limitación, aquellos agentes anestésicos o sales de los mismos que comprenden al menos un resto lipófilo y un resto hidrófilo seleccionados del grupo que consiste en ambucaína, amolanona, amilocaína, articaína, benoxinato, benzocaína, betoxicaína,
 20 bifenamina, bupivacaína, butacaína, butambeno, butanilcaína, butetamina, butoxicaína, cloroprocaína, cocaetilo, cocaína, ciclometacaína, dibucaína, dimetisoquina, dimetocaína, diperodón, diciclomina, ecgonidina, ecgonina, etidocaína, beta-eucaína, euprocina, fenalcomina, farmocaína, fomocaína, hexilcaína, hidroxitetraína, p-aminobenzoato de isobutilo, mesilato de leucinocaína, levoxadrol, lidocaína, mepivacaína, mepirilcaína, metabutoxicaína, mirtecaína, naepaína, octacaína, ortocaína, oxetazaína, paretoxicaína, fenacaína, fenol,
 25 piperocaína, piridocaína, polidocanol, pramoxina, prilocaína, procaína, propanocaína, proparacaína, propipocaína, propoxicaína, pseudococaína, pirrocaína, ropivacaína, alcohol salicílico, tetracaína, tolicaína, trimecaína, zolamina y una mezcla de los mismos.

En una realización, la composición de la invención es una donde los agentes anestésicos locales o una sal de los
 30 mismos se seleccionan del grupo que consiste en anestésicos locales a base de amidas tales como lidocaína, mepivacaína, articaína o una mezcla de las mismas. En una realización, la composición de la invención es una donde los agentes anestésicos locales o una sal de los mismos es lidocaína o una sal de la misma. En una realización, la composición de la invención es una donde los agentes anestésicos locales o una sal de los mismos es mepivacaína o una sal de la misma. En una realización, la composición de la invención es una donde los agentes anestésicos
 35 locales o una sal de los mismos es articaína o una sal de la misma.

Las sales del anestésico local abarcan sales formadas a partir de ácidos no tóxicos aceptables incluyendo ácidos inorgánicos u orgánicos. No hay limitación con respecto a las sales, excepto que deben ser terapéutica o cosméticamente aceptables cuando se usan con fines farmacéuticos o cosméticos, respectivamente. La mayoría de
 40 las sales aceptables están disponibles en el mercado. De lo contrario, estas sales pueden prepararse siguiendo los procesos descritos en el estado de la técnica, que implica partir de ácidos no tóxicos aceptables, incluyendo ácidos inorgánicos y orgánicos. Tales ácidos incluyen, por ejemplo, ácido acético, bencensulfónico, benzoico, alcanfor sulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico y clorhidrato. A modo de
 45 ejemplo, pueden prepararse a partir del compuesto precursor, que contiene un resto básico, mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, dichas sales se preparan, por ejemplo, haciendo reaccionar la forma de base libre de este compuesto con una cantidad estequiométrica del ácido aceptable apropiado en agua o en un disolvente orgánico o en una mezcla de ellos. Para el fin de la presente invención, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" usada en el presente documento abarca cualquier sal formada a partir de ácidos no tóxicos
 50 farmacéuticamente aceptables como se ha definido anteriormente. La expresión "sales cosméticas aceptables" usada en el presente documento abarca cualquier sal formada a partir de ácidos no tóxicos cosméticos aceptables como se ha definido anteriormente.

En una realización, la composición de la invención es una donde los agentes anestésicos locales están en forma de sal. En una realización, la composición de la invención comprende sal de clorhidrato de lidocaína. En una realización,
 55 la composición de la invención comprende sal de clorhidrato de mepivacaína. En una realización, la composición de la invención comprende sal de clorhidrato de articaína.

En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de uno o más agentes anestésicos locales o una sal de los mismos, teniendo un valor pKa experimental calculado por la ecuación
 60 de Henderson-Hasselbalch que es de 2,5 a 10 % inferior al valor pKa termodinámico predicho calculado por la ecuación de Henderson-Hasselbalch.

Para el fin de la invención, la expresión "valor pKa termodinámico" (abreviado como pKaT) es el valor pKa tabulado en el estado de la técnica (cf. René. Levy *et al.* "Determination of thermodynamic dissociation constants of local anaesthetic amines: influence of ionic strength" J. Pharm. Pharmac., 1972, vol. 24, págs. 841-847), y calculado a partir de la constante de equilibrio de disociación de un ácido débil en ausencia de agentes perturbadores del equilibrio (cf.

5 René. Levy *et al.*).

La expresión "valor pKa experimental" (abreviado como pKaS) es el pKa calculado experimentalmente, usando la ecuación de Henderson-Hasselbalch, partiendo del pH, los valores [B] y [BH⁺] medidos experimentalmente usando respectivamente el medidor de pH y cromatografía de exclusión por tamaños acoplada con detector UV-visible y de masas (SEC/UV/MS) en presencia de agentes perturbadores del equilibrio (es decir, poliglicerol libre y ácido

10 hialurónico reticulado con PPE).

Para el fin de la invención, la ecuación de Henderson-Hasselbalch es la siguiente:

$$15 \quad pH = pKa + \log \frac{[B]}{[BH^+]}$$

donde:

el pH es el $-\log([H^+])$,

pKa es el $-\log$ de la constante de equilibrio de disociación del ácido débil;

[B] ([base]) es la concentración de la forma básica conjugada del anestésico local; y

20 [BH⁺] ([ácido]) es la forma ácida conjugada del anestésico local.

Derivación de los valores de [B] y [BH⁺] del siguiente equilibrio:



El valor del pKa corresponde al valor pKa termodinámico para cada anestésico local tabulado en el estado de la técnica como se ha definido anteriormente (cf. René. Levy *et al.* "Determination of thermodynamic dissociation constants of

30 local anaesthetic amines: influence of ionic strength" J. Pharm. Pharmac., 1972, vol. 24, págs. 841-847).

En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de lidocaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene un valor pKa experimental de 7,2 a 7,8 calculado por la ecuación de Henderson-Hasselbalch. En una realización, la composición de la presente invención

35 comprende: C) una cantidad efectiva de mepivacaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene un valor pKa experimental de 7,1 a 7,7 calculado por la ecuación de Henderson-Hasselbalch. En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de articaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene un valor pKa experimental de 7,0 a 7,5 calculado por la ecuación de Henderson-Hasselbalch.

40 En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de uno o más agentes anestésicos locales o una sal de los mismos, que tiene un porcentaje de forma neutra B del anestésico local determinado por GC/MS que es de 40 % a 160 % superior al valor predicho calculado por la ecuación de Henderson-Hasselbalch como se describe en la presente invención.

45 En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de lidocaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene del 25 % al 63 % del porcentaje de la forma neutra B de lidocaína o una sal de la misma determinado por GC/MS a aproximadamente pH 7,4. En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de lidocaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene del 17 % al 34 % del porcentaje de la forma neutra B de lidocaína

50 o una sal de la misma determinado por GC/MS a aproximadamente pH 7,2. En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de lidocaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene del 12 % al 25 % del porcentaje de la forma neutra B de lidocaína o una sal de la misma determinado por GC/MS a aproximadamente pH 7,0.

55 En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de mepivacaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene del 29 % al 65 % del porcentaje de la forma neutra B de mepivacaína o una sal de la misma determinado por GC/MS a aproximadamente pH 7,4. En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de mepivacaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene del 21 % al 40 % del porcentaje de la forma

60 neutra B de mepivacaína o una sal de la misma determinado por GC/MS a aproximadamente pH 7,2. En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de mepivacaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene del 15 % al 26 % del porcentaje de la forma neutra B de mepivacaína o una sal de la misma determinado por GC/MS a aproximadamente pH 7,0.

En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de articaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene del 41 % al 70 % del porcentaje de la forma neutra B de articaína o una sal de la misma determinado por GC/MS a aproximadamente pH 7,4. En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de articaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene del 29 % al 50 % del porcentaje de la forma neutra B de articaína o una sal de la misma determinado por GC/MS a aproximadamente pH 7,2. En una realización, la composición de la presente invención comprende: C) una cantidad efectiva de articaína o una sal de la misma como uno o más agentes anestésicos locales y que tiene del 21 % al 40 % del porcentaje de la forma neutra B de articaína o una sal de la misma determinado por GC/MS a aproximadamente pH 7,0.

Como se ha mencionado anteriormente, la composición de la presente invención comprende opcionalmente D) uno o más excipientes o portadores aceptables. En una realización, la composición comprende: D) uno o más excipientes o portadores aceptables. Los excipientes y/o portadores apropiados, sus cantidades, así como las condiciones del procedimiento experimental para su preparación, pueden determinarse fácilmente por los expertos en la materia de acuerdo con el campo y el tipo de formulación que se esté preparando.

En una realización, la composición de la invención es una "composición farmacéutica" que comprende: una cantidad terapéuticamente efectiva de los uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I), de fórmula (II) o una mezcla de los mismos; una cantidad terapéuticamente efectiva de los uno o más poliglicérols de fórmula (III) o fórmula (IV) o una mezcla de los mismos; una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más agentes anestésicos, y opcionalmente, uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables. La expresión "composición farmacéutica" se refiere a una composición adecuada para su uso en la tecnología farmacéutica de uso médico. La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva", como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de ácidos hialurónicos reticulados, poliglicérols y agentes anestésicos que, cuando se administran, es suficiente para prevenir el desarrollo de, o tratar, curar o aliviar en cierta medida, uno o más de los síntomas de la enfermedad que se está tratando. La dosis de la cantidad terapéuticamente efectiva de ácidos hialurónicos reticulados, poliglicérols y agentes anestésicos administrados de acuerdo con la presente invención, se determinará, por supuesto, según las circunstancias particulares del caso, entre las que se incluyen el compuesto administrado, la vía de administración, la afección particular a tratar y las consideraciones similares. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables. La expresión "excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables" se refiere a los excipientes o portadores adecuados para su uso en la tecnología farmacéutica para preparar composiciones de uso médico.

En una realización, la composición es una composición cosmética que comprende una cantidad cosméticamente efectiva de los uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I), de fórmula (II) o una mezcla de los mismos; una cantidad cosméticamente efectiva de los uno o más poliglicérols de fórmula (III) o fórmula (IV) o una mezcla de los mismos; una cantidad cosméticamente efectiva de uno o más agentes anestésicos, y opcionalmente, uno o más excipientes o portadores cosméticamente aceptables. La composición cosmética de la presente invención está diseñada para aplicar al cuerpo la cantidad apropiada ("cantidad cosméticamente efectiva") para mejorar su aspecto o embellecer, conservar, acondicionar, limpiar, colorear o proteger la piel, uñas o cabello (cf. Academic Press Dictionary of Science and Technology, 1992, pág. 531; A terminological Dictionary of the Pharmaceutical Sciences. 2007, pág. 190). Por lo tanto, las composiciones cosméticas anteriores se usan adjetivamente para una aplicación no médica. Las expresiones "cosméticamente aceptable" o "dermatológicamente aceptable", que se usan en el presente documento indistintamente, se refieren a excipientes o portadores adecuados para su uso en contacto con la piel humana sin demasiada toxicidad, incompatibilidad, inestabilidad, respuesta alérgica, entre otros.

Las composiciones farmacéuticas tópicas o cosméticas tópicas definidas anteriormente comprenden excipientes o portadores apropiados para la administración tópica que pueden ser excipientes farmacéutica o cosméticamente aceptables, incluyendo, aunque sin limitación, un agente reparador de la función de la barrera cutánea, un agente hidratante, un emoliente, un emulsionante, un espesante, un humectante, un agente regulador del pH, un antioxidante, un agente conservante, un vehículo, o sus mezclas. Los excipientes o portadores usados tienen afinidad por la piel, son bien tolerados, estables y se usan en una cantidad adecuada para proporcionar la consistencia deseada y la facilidad de aplicación. De manera adicional, las composiciones de la presente invención pueden contener otros ingredientes, tales como fragancias, colorantes, y otros componentes conocidos en el estado de la técnica para su uso en formulaciones tópicas. Las composiciones tópicas de la invención se pueden formular en varias formas que incluyen, pero sin limitación, soluciones, aerosoles y pulverizados sin aerosol, cremas, polvos, mousses, lociones, geles, barras, pomadas, pastas, champús, gel de ducha, jabones líquidos corporales o faciales y emulsiones.

En una realización, la composición farmacéutica o cosmética es una composición inyectable. En una realización, la composición farmacéutica o cosmética es una composición inyectable seleccionada del grupo que consiste en aplicación intramuscular, subcutánea o intravenosa. En una realización, las composiciones farmacéuticas o cosméticas de la presente invención están en forma de composiciones parenterales adecuadas para su inyección, infusión o implantación en el cuerpo. Las composiciones parenterales definidas anteriormente deben ser estériles, y

libres de pirógenos, y pueden estar en forma de líquido tal como soluciones, emulsiones o suspensiones, o en forma sólida envasada en envases monodosis o multidosis convenientemente diluidos antes de su uso. Las composiciones parenterales pueden comprender excipientes o portadores apropiados para la administración parenteral que pueden ser excipientes farmacéuticos o cosméticos, incluyendo, aunque sin limitación, disolventes, agentes de suspensión, agentes tamponantes, sustancias para que la preparación sea isotónica con la sangre, estabilizadores o conservantes antimicrobianos. La adición de excipientes debería mantenerse al mínimo. Cuando se usan excipientes, no deben afectar negativamente a la estabilidad, biodisponibilidad, seguridad o eficacia de los polímeros y/o los agentes activos, ni causar toxicidad o irritación local indebida. No debe haber ninguna incompatibilidad entre ninguno de los componentes de la forma farmacéutica.

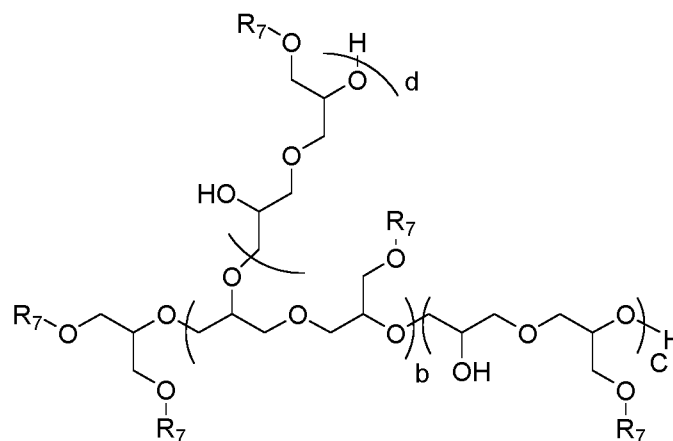
Como se demuestra en la sección experimental, la composición de la presente invención ha mejorado las propiedades físicas (reológicas) y químicas (concentración de poligliceroles libres e hidrogel reticulado con PPE) para proporcionar una mejora inesperada en la cantidad de forma liposoluble (activa) del anestésico local y su liberación más rápida de la composición de matriz de hidrogel de la presente invención, dando como resultado una reducción del comienzo de acción del anestésico local.

En una realización, la composición del primer aspecto de la invención, es una que tiene un módulo de almacenamiento G' de 10 a 1500 Pa; particularmente de 30 a 700 Pa medido a 1,0 Hz.

También es parte de la presente invención un procedimiento para la preparación del primer aspecto de la invención. En una realización, el procedimiento para la preparación de la composición de la invención comprende:

-cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I), la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

i) reticular un ácido hialurónico con un compuesto de fórmula (V)

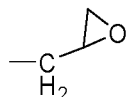


(V)

donde:

cada R_7 se selecciona independientemente del grupo que consiste en R_2 ;

R_2 es



b es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1 a 70;

c es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

d es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

(ii) poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (i) que comprende (A) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y (B) uno o más poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) con los uno o más agentes anestésicos (C);

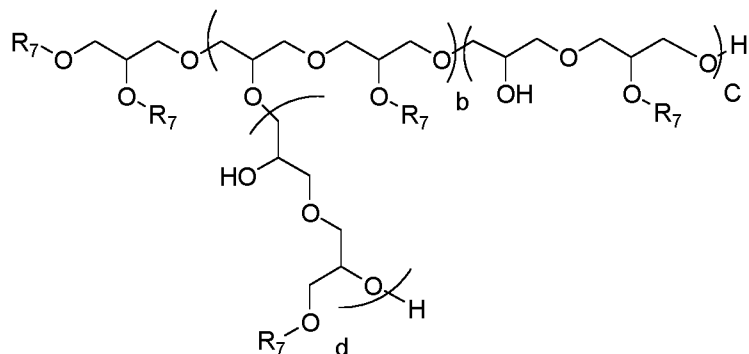
(iii) opcionalmente, poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (ii) con los uno o más excipientes o portadores (D); y

(iv) opcionalmente, esterilizar la mezcla obtenida en la etapa (iii);

o, como alternativa,

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (II), entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

i') reticular un ácido hialurónico con un compuesto de fórmula (VI)

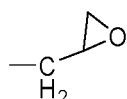


(VI)

donde:

cada R₇ se selecciona independientemente del grupo que consiste en R₂;

R₂ es



b es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1 a 70;

c es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

d es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

(ii') poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (i') que comprende (A) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II) y (B) uno o más poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) con los uno o más agentes anestésicos (C);

(iii') opcionalmente, poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (ii') con los uno o más excipientes o portadores

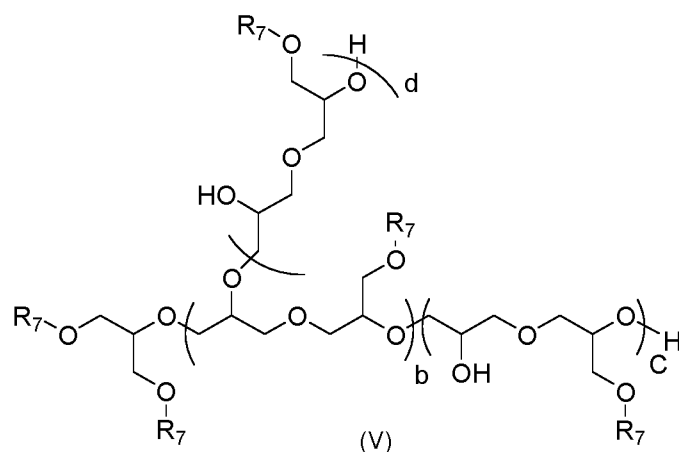
(D); y

(iv') opcionalmente, esterilizar la mezcla obtenida en la etapa (iii');

o, como alternativa,

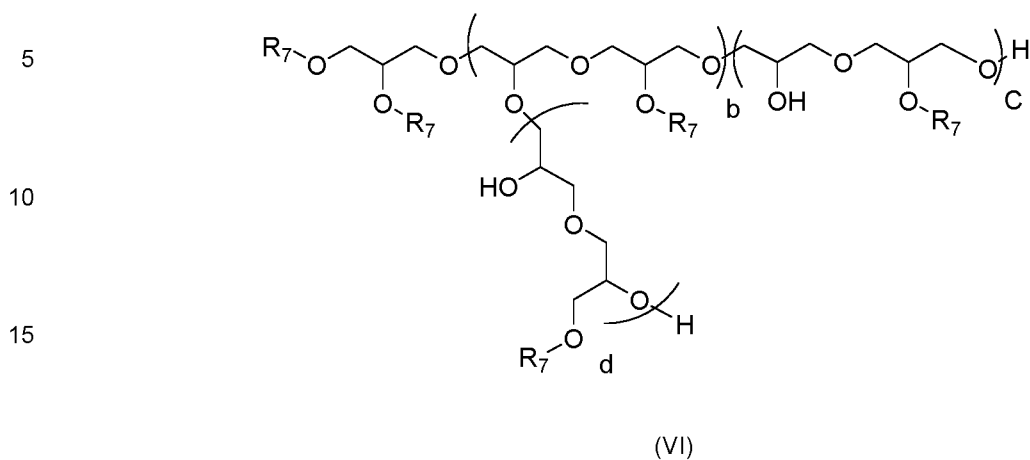
- cuando la composición comprende (a) una mezcla de un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) y de fórmula (II); entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

i'') reticular un ácido hialurónico con una mezcla que comprende el compuesto de fórmula (V)



(V)

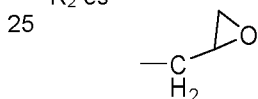
y de fórmula (VI)



donde:

cada R₇ se selecciona independientemente del grupo que consiste en R₂;

R₂ es



30 b es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1 a 70;

c es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

d es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

(ii'') poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (i'') que comprende (A) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y fórmula (II) y (B) uno o más poliglicérols de fórmula (III) o fórmula (IV) con los uno o más agentes

35 anestésicos (C);

(iii'') opcionalmente, poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (ii'') con los uno o más excipientes o portadores (D); y

(iv'') opcionalmente, esterilizar la mezcla obtenida en la etapa (iii'').

40 En una realización, el procedimiento para la preparación de la composición de la invención comprende:

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I), la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

i) reticular un ácido hialurónico con un compuesto de fórmula (V) que tiene:

un peso molecular (M_w) de 204 a 15.000 Da medido mediante el método por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC); y

un peso equivalente de epoxi de 100 a 7000 g/eq medido por valoración rápida asistida por ultrasonificación con HCl; o, como alternativa,

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (II), entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

50 i') reticular un ácido hialurónico con un compuesto de fórmula (VI) que tiene:

un peso molecular (M_w) de 204 a 15.000 Da medido mediante el método por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC); y

un peso equivalente de epoxi de 100 a 7000 g/eq medido por valoración rápida asistida por ultrasonificación con HCl; o, como alternativa,

55 - cuando la composición comprende (a) una mezcla de un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) y de fórmula (II); entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

i'') reticular un ácido hialurónico con una mezcla que comprende el compuesto de fórmula (V) y el compuesto de fórmula (VI) que tiene:

un peso molecular (M_w) de 204 a 15.000 Da medido mediante el método por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC); y

60 un peso equivalente de epoxi de 100 a 7000 g/eq medido por valoración rápida asistida por ultrasonificación con HCl.

En una realización, el procedimiento para la preparación de la composición de la invención comprende:

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I), entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende una etapa adicional (v) después de la etapa (ii); o como alternativa después de la etapa (iii), o como alternativa después de la etapa (iv) que comprende la adición de un compuesto de fórmula (III), un compuesto de fórmula (IV) o una mezcla de los mismos;
- o, como alternativa,
- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (II), entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende una etapa adicional (v') después de la etapa (ii'); o como alternativa después de la etapa (iii'), o como alternativa después de la etapa (iv') que comprende la adición de un compuesto de fórmula (III), un compuesto de fórmula (IV) o una mezcla de los mismos;
- o, como alternativa,
- cuando la composición comprende (a) una mezcla de un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) y de fórmula (II); entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende una etapa adicional (v'') después de la etapa (ii''); o como alternativa después de la etapa (iii''), o como alternativa después de la etapa (iv'') que comprende la adición de un compuesto de fórmula (III), un compuesto de fórmula (IV) o una mezcla de los mismos.

En una realización, el procedimiento para la preparación de la composición de la invención es uno donde:

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) y el procedimiento comprende i) reticular un ácido hialurónico con un compuesto de fórmula (V); entonces el compuesto de fórmula (V) se obtiene mediante un procedimiento que comprende:
 - a) proporcionar una solución alcalina que contenga 1,3-glicerol diglicidil éter; y
 - b) mantener la solución obtenida en la etapa a) a una temperatura de 10 °C a 80 °C durante un período de 1 min a 30 días;
- o, como alternativa,
- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (II) y el procedimiento comprende i') reticular un ácido hialurónico con un compuesto de fórmula (VI); entonces el compuesto de fórmula (VI) se obtiene mediante un procedimiento que comprende:
 - c) proporcionar una solución alcalina que contenga 1,2-glicerol diglicidil éter; y
 - b) mantener la solución obtenida en la etapa c) a una temperatura de 10 °C a 80 °C durante un período de 1 min a 30 días;
- o, como alternativa,
- cuando la composición comprende (a) una mezcla de un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) y de fórmula (II); y el procedimiento comprende i'') reticular un ácido hialurónico con una mezcla que comprende el compuesto de fórmula (V) y el compuesto de fórmula (VI), entonces:
 - el compuesto de fórmula (V) se obtiene mediante un procedimiento que comprende:
 - a) proporcionar una solución alcalina que contenga 1,3-glicerol diglicidil éter; y
 - b) mantener la solución obtenida en la etapa a) a una temperatura de 10 °C a 80 °C durante un período de 1 min a 30 días; y
 - el compuesto de fórmula (VI) se obtiene mediante un procedimiento que comprende:
 - c) proporcionar una solución alcalina que contenga 1,2-glicerol diglicidil éter; y
 - b) mantener la solución obtenida en la etapa c) a una temperatura de 10 °C a 80 °C durante un período de 1 min a 30 días;
- particularmente,
- en la etapa a) la solución alcalina comprende de 1 a 50 por ciento en peso de 1,3-glicerol diglicidil éter; y
- en la etapa c) la solución alcalina comprende de 1 a 50 por ciento en peso de 1,2-glicerol diglicidil éter.

En una realización, el procedimiento para la preparación de la composición del primer aspecto de la invención comprende:

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I), la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende además una etapa de lavado adicional (vi) después de la etapa (i);
- o, como alternativa,
- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (II), entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende además una etapa de lavado adicional (vi') después de la etapa (i');
- o, como alternativa,
- cuando la composición comprende (a) una mezcla de un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) y de fórmula (II); entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende además una etapa de lavado adicional (vi'') después de la etapa (i'').

En una realización, la etapa (vi), o como alternativa la etapa (vi'), o como alternativa la etapa (vi'') se realiza mediante la adición de dicha cantidad apropiada de una solución acuosa ácida para obtener un pH de 6,5-7,4 y una concentración de poliglicerol de fórmula (III) o fórmula (IV) o una mezcla de los mismos en la composición es de 0,45 a 25 mg/ml. Los ejemplos de solución acuosa ácida apropiada incluyen, pero no se limitan a los ácidos inorgánicos (minerales) fuertes y débiles, tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido ortofosfórico, ácido bórico, ácido nítrico y ácidos orgánicos fuertes y débiles tales como ácido acético, ácido láctico, ácido fórmico, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido úrico, ácido málico, ácido tartárico o mezclas de los mismos. En una realización, todas las realizaciones mencionadas anteriormente y a continuación del procedimiento para la preparación de la composición del primer aspecto de la invención comprende además la etapa adicional (vi), o como alternativa la etapa adicional (vi'), o como alternativa la etapa (vi'').

En una realización, la etapa i), o como alternativa la etapa i'), o como alternativa la etapa i''), se realiza a una temperatura de 10 a 50 °C; particularmente aproximadamente 30 °C. En una realización, la etapa i), o como alternativa la etapa i'), o como alternativa la etapa i''), se realiza durante 1 a 48 h; particularmente aproximadamente 8 h.

En una realización, la etapa ii), o como alternativa la etapa ii'), o como alternativa la etapa ii''), se realiza a una temperatura de 10 a 50 °C; particularmente aproximadamente 25 °C. En una realización, la etapa ii), o como alternativa la etapa ii'), o como alternativa la etapa ii''), se realiza durante 1 a 8 h; particularmente aproximadamente 2 h.

En una realización, si uno o más excipientes o portadores (D), entonces el procedimiento comprende la etapa iii), o como alternativa la etapa iii'), o como alternativa la etapa iii''). En una realización, si uno o más excipientes o portadores (D), entonces el procedimiento comprende la etapa iii), o como alternativa la etapa iii'), o como alternativa la etapa iii'') que se realiza durante 1 a 8 h; particularmente aproximadamente 2 h.

En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv''). En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv'') que se realiza a una temperatura de 120 a 135 °C; particularmente de 121 a 130 °C. En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv''). En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv'') que se realiza a una temperatura de 121 a 126 °C. En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv''). En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv'') que se realiza durante 1 min a 20 min; particularmente durante 3 min a 15 min. En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv''). En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv'') que se realiza durante 10 min a 15 min. En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv''). En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv'') que se realiza a 121 °C durante 15 min. En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv''). En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv'') que se realiza a 126 °C durante 10 min. En una realización, el procedimiento comprende una etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv'') que se realiza a 134 °C durante 3 min.

La etapa de esterilización puede realizarse de acuerdo con métodos bien conocidos en el estado de la técnica. En una realización, la etapa de esterilización se realiza mediante un método seleccionado del grupo que consiste en filtración, esterilización por autoclave, calentamiento, irradiación y una combinación de los mismos; preferentemente, la etapa de esterilización se realiza mediante esterilización por vapor en autoclave; particularmente siguiendo los procedimientos aceptados por la farmacopea recogidos en la norma EN ISO 17665-1 (Esterilización de productos sanitarios - Calor húmedo Parte 1: requisitos para el desarrollo, validación y control rutinario de un procedimiento de esterilización para productos sanitarios (por ejemplo, 15 minutos a 121 °C)). En una realización, el procedimiento comprende además una etapa previa a la etapa de esterilización iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv'') que comprende el acondicionamiento de la composición; particularmente el llenado de jeringas con la composición de la invención. Resulta ventajoso puesto que la composición estéril así obtenida después de las etapas iv), o como alternativa la etapa iv'), o como alternativa la etapa iv'') es una composición inyectable estéril lista para usar.

En una realización, el procedimiento comprende la etapa v), o como alternativa la etapa v'), o como alternativa la etapa v'').

En una realización, la solución alcalina de la etapa a) o como alternativa de la etapa c) comprende una base seleccionada del grupo que consiste en hidróxidos de metales alcalinos o de amonio fisiológicamente aceptables (Na, K), hidróxidos de metales alcalinotérreos (Mg, Ca, Sr), hidróxidos de metales pesados fisiológicamente aceptables (Fe, Al, Co, Cu, Se, Zn, Cr, Ni), hidróxidos de cationes de amonio cuaternario fisiológicamente aceptables, 5 hidrogenocarbonato de metal pesado o amonio fisiológicamente aceptable (NH_4 , Fe, Al, Co, Cu, Se, Zn, Cr, Ni) y mezclas de los mismos.

La expresión "fisiológicamente aceptable" se refiere a un material no tóxico que es compatible con un sistema biológico tal como una célula, cultivo celular, tejido u organismo. Preferentemente, el sistema biológico es un organismo vivo, 10 tal como un mamífero, particularmente un ser humano.

En una realización, la solución alcalina de la etapa a) o como alternativa de la etapa c) comprende un hidróxido de metal alcalino o de amonio seleccionado del grupo que consiste en hidróxido de potasio (KOH), hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de amonio y una mezcla de los mismos; particularmente hidróxido de sodio. 15

En una realización, la solución alcalina de la etapa a) o como alternativa de la etapa c) comprende un hidróxido de metal alcalinotérreo seleccionado del grupo que consiste en hidróxido de magnesio, hidróxido de calcio, hidróxido de estroncio y una mezcla de los mismos.

20 En una realización, La solución alcalina de la etapa a) o como alternativa de la etapa c) comprende un hidróxido de metal pesado seleccionado del grupo que consiste en hidróxido de hierro, hidróxido de aluminio, hidróxido de cobalto, hidróxido de selenio, hidróxido de estaño, hidróxido de cromo, hidróxido de níquel y una mezcla de los mismos.

En una realización, la solución alcalina de la etapa a) o como alternativa de la etapa c) comprende hidróxidos de amonio cuaternario de fórmula $\text{HONR}_6\text{R}_7\text{R}_8\text{R}_9$ donde cada uno de R_6 , R_7 , R_8 y R_9 se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$), o como alternativa dos de R_5 , R_6 , R_7 y R_9 forman un anillo de cicloalquilo ($\text{C}_5\text{-C}_9$). 25

En una realización, la solución alcalina de la etapa a) o como alternativa de la etapa c) comprende hidrogenocarbonato de metal pesado o de amonio seleccionado del grupo que consiste en hidrogenocarbonato de hierro, hidrogenocarbonato de aluminio, hidrogenocarbonato de cobalto, hidrogenocarbonato de cobre, hidrogenocarbonato de selenio, hidrogenocarbonato de cinc, hidrogenocarbonato de cromo, hidrogenocarbonato de níquel, hidrogenocarbonato de amonio y una mezcla de los mismos; particularmente hidrogenocarbonato de sodio. 30

En una realización, la solución alcalina de la etapa a) o como alternativa de la etapa c) comprende de 1 a 50 por ciento en peso de 1,3-GDE o como alternativa de 1,2-GDE. En una realización, la solución alcalina de la etapa a) o como alternativa de la etapa c) comprende hidróxido alcalino y comprende de 1 a 50 por ciento en peso de 1,3-GDE o como alternativa de 1,2-GDE. En una realización, la solución alcalina de la etapa a) o como alternativa de la etapa c) comprende un hidróxido alcalino seleccionado del grupo que consiste en hidróxido de potasio (KOH), hidróxido de sodio (NaOH) y una mezcla de los mismos y comprende de 1 a 50 por ciento en peso de 1,3-GDE o como alternativa de 1,2-GDE. En una realización, la solución alcalina de la etapa a) o como alternativa de la etapa c) comprende hidróxido sodio (NaOH) y comprende de 1 a 50 por ciento en peso de 1,3-GDE o como alternativa de 1,2-GDE. El 1,3-GDE y el 1,2-GDE han sido descritos previamente en el estado de la técnica, y están disponibles en el mercado (cf. la sección experimental). 35 40

En una realización, la etapa a) o como alternativa la etapa c) del procedimiento de la invención se realiza a temperatura ambiente. La expresión "temperatura ambiente" se refiere a una temperatura de aproximadamente 25 a 35 °C. En una realización, la etapa a) o como alternativa la etapa c) del procedimiento de la invención se realiza en presencia de un disolvente. En una realización, la etapa a) o como alternativa la etapa c) del procedimiento de la invención se realiza en presencia de un disolvente seleccionado del grupo que consiste en agua, alquil ($\text{C}_1\text{-C}_4$)-OH, alquil ($\text{C}_1\text{-C}_4$)-CO-alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_4$), alquil ($\text{C}_1\text{-C}_4$)-CO-O-alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_4$), alquil ($\text{C}_1\text{-C}_4$)-CN y mezclas de los mismos. En una realización, la etapa a) o como alternativa la etapa c) del procedimiento de la invención se realiza en presencia de un disolvente seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, acetona, acetonitrilo, acetato de etilo y mezclas de los mismos; particularmente el disolvente es agua. 45 50

El término "alquilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada saturada que contiene el número de átomos de carbono especificado en la descripción o en las reivindicaciones. Los ejemplos incluyen, entre otros, el grupo metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo y *terc*-butilo. 55

En una realización, la etapa b) o como alternativa la etapa d) se realiza sometiendo el 1,3-GDE o como alternativa el 1,2-GDE a una temperatura de 10 a 80 °C durante un período de 1 min a 30 días durante el cual tiene lugar la autopólimerización del GDE. 60

En una realización, la etapa b) o como alternativa la etapa d) se realiza sometiendo el 1,3-GDE o como alternativa el 1,2-GDE a una temperatura en el intervalo de 50 a 80 °C durante un período de 1 minuto a 500 minutos. En una realización, la etapa b) o como alternativa la etapa d) se realiza sometiendo el 1,3-GDE o como alternativa el 1,2-GDE a una temperatura en el intervalo de 50 a 80 °C durante un período de 5 a 60 minutos.

5 En una realización, la etapa b) o como alternativa la etapa d) se realiza sometiendo el 1,3-GDE o como alternativa el 1,2-GDE a una temperatura en el intervalo de 10 a 40 °C durante un período de 1 a 30 días. En una realización, la etapa b) o como alternativa la etapa d) se realiza sometiendo el 1,3-GDE o como alternativa el 1,2-GDE a una temperatura de 10 a 40 °C durante un período de 2 días a 7 días.

10 La composición del primer aspecto de la invención es obtenible por el procedimiento como se ha definido anteriormente. Para los fines de la invención las expresiones "obtenible", "obtenido/a" y expresiones equivalentes se usan indistintamente y, en cualquier caso, la expresión "obtenible" abarca la expresión "obtenido/a". Todas las realizaciones descritas anteriormente para el procedimiento de preparación y también para la composición *per se* aplican también a la composición obtenible por el procedimiento de la invención.

También forma parte de la invención el uso de la composición del primer aspecto de la invención.

La composición del primer aspecto de la invención puede usarse en el campo farmacéutico. En una realización, la composición de la invención es una composición farmacéutica como se ha definido anteriormente para su uso en
20 terapia. En una realización, la composición de la invención es una composición farmacéutica como se ha definido anteriormente para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección que implica una deficiencia y/o deterioro del ácido hialurónico. En una realización, la composición de la invención es una composición farmacéutica como se ha definido anteriormente para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección que implica una deficiencia y/o deterioro del ácido hialurónico seleccionada del grupo que consiste en enfermedades de las articulaciones y los huesos
25 tales como osteoartritis, hipovolumetrías faciales y corporales, asimetrías faciales y corporales; cicatrización de heridas, desprendimiento de retina u otras lesiones oculares, inflamación de tejidos y mucosas, infecciones de oído y de los senos nasales, y para reducir el ardor, el picor y el dolor que se producen con el adelgazamiento de los tejidos y las mucosas.

30 Este aspecto también podría formularse como el uso de la composición farmacéutica del primer aspecto de la invención como se ha definido anteriormente para la preparación de un medicamento. También se refiere a un método para el tratamiento de un mamífero que padece o es susceptible de padecer una enfermedad o afección que implique una deficiencia y/o deterioro del ácido hialurónico, tal como los mencionados anteriormente. Este aspecto también se podría formular como el uso de la composición farmacéutica de la invención para la preparación de un medicamento
35 para el tratamiento de una enfermedad o afección que implique una deficiencia y/o deterioro del ácido hialurónico, tal como los mencionados anteriormente.

La composición del primer aspecto de la invención puede usarse en el campo cosmético. En una realización, la composición de la invención es una composición cosmética como se ha definido anteriormente útil como agente para
40 el cuidado de la piel. La expresión "agente para el cuidado de la piel" abarca un agente capaz de mejorar al menos uno de los siguientes síntomas: aspereza, descamación, deshidratación, tirantez, agrietamiento y falta de elasticidad. En una realización, la composición de la invención es una composición cosmética como se ha definido anteriormente útil como relleno dérmico (también conocido como agente de aumento de tejidos blandos) como agente para el cuidado de la piel.

45 También forma parte de la invención, el uso de una composición del primer aspecto de la invención como portador. En una realización, la composición del primer aspecto de la invención es un sistema de liberación de fármacos; particularmente como un sistema de liberación de principios activos farmacéuticos, agentes de diagnóstico, compuestos cosméticos, péptidos, proteínas, anticuerpos, vacunas, polinucleótidos, vitaminas, antioxidantes y genes.
50 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones, la palabra "comprende" y variaciones de la misma, no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o etapas. Además, la palabra "comprende" abarca el caso de "que consiste en". Objetos adicionales, ventajas y características de la invención serán evidentes para los expertos en la materia tras examinar la descripción o pueden aprenderse poniendo en práctica la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración y no pretenden ser limitantes de la presente invención.

55 Ejemplos

Lista de abreviaturas

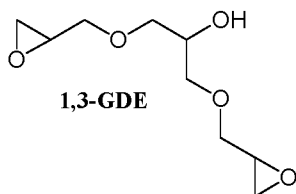
AH: ácido hialurónico
60 GAG: glicosaminoglicano
G.R.: grado de reticulación
GlcA: ácido D-glucurónico
GlcNAc: N-acetil D-glucosamina

- MEC: matriz extracelular
 HYAL: enzima hialuronidasa
 AI: artritis inflamatoria
 BDDE: 1,4-butano diol diglicidil éter
 5 GDE: 1,3-glicerol diglicidil éter
 PPE: poliglicerol diglicidil éter
 FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU.
 EEW: Peso equivalente de epoxi
 GC/MS: Cromatografía de gases acoplada con detector de masas
 10 SEC/UV/MS: Cromatografía de exclusión por tamaños acoplada con detector ultravioleta y de masas
 UV-Vis: Espectroscopia ultravioleta y visible
 PBS: solución de tampón fosfato
 RIP: redes interpenetrantes
 Mw: peso molecular promedio en peso;
 15 Mn: peso molecular promedio en número;
 AL: Anestésico local;
 Gly: Glicerol
 Man: Manitol
 LIDO: clorhidrato de lidocaína;
 20 ARTI: clorhidrato de articaína;
 MEPI: clorhidrato de mepivacaína.

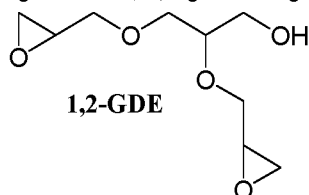
Materiales

Hialuronato de sodio ultrapuro SHYALT (ácido hialurónico) de Altergon Italy.

- 25 1,3-Bis(2-oxiranilmetoxi)-2-propanol que también se conoce con los siguientes nombres, nombres comerciales, sinónimos y abreviaturas: 1,3-Bis(oxiran-2-ilmetoxi) propan-2-ol; 2-propanol, 1,3-bis(oxiranilmetoxi); glicerol 1,3-diglicidil éter; Denacol EX-313, MW=204 Da, EEW=141 g/eq de Nagase Chemtex; 1,3-glicerol diglicidil éter, MW=204 Da de Merck; y 1,3-GDE tiene la siguiente estructura:



- 30 2,3-Bis(2-oxiranilmetoxi)-1-propanol que también se conoce con los siguientes nombres, nombres comerciales, sinónimos y abreviaturas: 2,3-Bis(oxiran-2-ilmetoxi) propan-1-ol; 1-propanol, 1,2-bis(oxiranilmetoxi); glicerol 1,2-diglicidil éter; 1,2-glicerol diglicidil éter, MW=204 Da de Merck; y 1,2-GDE tiene la siguiente estructura:



- 35 Las mezclas de 1,3-GDE y 1,2-GDE también están disponibles en el mercado con los siguientes nombres de marca registrada: Denacol EX-314, MW=260 Da, EEW=144 g/eq de Nagase Chemtex.
 Los siguientes compuestos se adquirieron en Merck: butanodiol diglicidil éter (BDDE), MW=202 Da; pellets de hidróxido de sodio (NaOH); ácido clorhídrico al 37 % (HCl); polvo de cloruro de sodio (NaCl); polvo de cloruro de potasio (KCl); ácido fosfórico al 85 % (H3PO4); pellets de solución salina tamponada con fosfato (PBS); agua destilada
 40 (H2O); glicerol; manitol; clorhidrato de lidocaína (LIDO); clorhidrato de articaína (ARTI); clorhidrato de mepivacaína (MEPI).

Métodos analíticos

- 45 El método cuantitativo para la determinación de la fracción neutra y la cantidad total de anestésicos locales se evaluó mediante un espectrofotómetro UV-Vis. El método cuantitativo para la medición de los compuestos semivolátiles se evaluó mediante un instrumento cromatográfico GC/MS para la fracción neutra de los anestésicos locales. LC se refiere a métodos que implican una técnica de cromatografía líquida, que históricamente se denominan con diferentes acrónimos como cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), cromatografía de permeación en gel (GPC),
 50 cromatografía de exclusión por tamaños (CET), etc., dependiendo de las columnas usadas o de la naturaleza química

de la fase móvil (acuosa u orgánica). La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) prefiere usar el término SEC para los experimentos de este tipo. La combinación de diferentes detectores, tales como ultravioleta (UV), UV-visible (UV-vis), masas (MS), índice de refracción (IR), dispersión de luz (LS), etc. acoplados a la columna son también posibles, dependiendo de la naturaleza química del analito a detectar y cuantificar. Se evaluó el método 5 cuantitativo para la medición de los compuestos no volátiles mediante cromatografía de exclusión por tamaños acoplada a un instrumento cromatográfico SEC/UV/MS con detector de masas y UV-visible para la cantidad total de anestésicos locales. El método cuantitativo para la medición del peso molecular promedio en peso (Mw), El peso molecular promedio en peso (Mn) y la polidispersidad (Mw/Mn) se evaluó mediante cromatografía de exclusión por 10 tamaños acoplada con detector con dispersión de luz SEC/LS. El método cuantitativo para la medición del peso equivalente del epoxi (EEW) se evaluó mediante valoración asistida por ultrasonidos. El método cuantitativo para la medición del pH se calculó mediante la lectura directa de un medidor de pH equipado con un electrodo sumergido directamente en el hidrogel. El método cuantitativo para la medición de la osmolalidad se calculó mediante la lectura directa del osmómetro equipado con la sonda directamente sumergida en el hidrogel.

En resumen, se ha usado la nomenclatura de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) para identificar el método de medición por cromatografía líquida. Por lo tanto, para el fin de la presente invención, las expresiones cromatografía líquida (LC), cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), cromatografía de permeación en gel (GPC), cromatografía de exclusión por tamaños (SEC) se consideran equivalentes y se han referido 20 todas ellas como cromatografía de exclusión por tamaños (SEC) para su aclaración.

1. Conjugado de anestésico local y ácido hialurónico reticulado con poliglicerol poliglicidil éter (PPE)

1.1. Poliglicerol poliglicidil éter (PPE)

1.1.1. Uso de 1,3-GDE como material de partida

Los procesos de preparación mencionados a continuación también pueden realizarse usando el Denacol® EX-313 disponible en el mercado en Nagase como fuente de 1,3-GDE. No obstante, estos procesos también pueden realizarse usando el 1,3-glicerol diglicidil éter disponible en el mercado por Merck o con la nombre comercial Denacol® EX-314, 30 que es una mezcla que contiene 1,3-GDE en lugar de Denacol® EX-313.

1.1.1.1. Procedimiento de preparación de PPEs

Los pellets de hidróxido de sodio (NaOH) se disolvieron en agua para formar una solución alcalina que contenía un 4 por ciento de NaOH (1 M) en peso en función del peso total de la solución (Solución A).

El 1,3-GDE (Denacol® EX-313) se disolvió a temperatura ambiente en una porción de la solución A para formar una solución alcalina que contenía del 1 al 50 por ciento de 1,3-GDE en peso en función del peso total de la solución (Solución C1).

La solución C1 se dejó entonces reaccionar a temperatura controlada en el intervalo entre 10 y 80 °C durante un período comprendido de 1 min a 30 días durante el cual tuvo lugar la autopolimerización del 1,3-GDE dando poliglicerol poliglicidil éteres descritos en la Tabla 1 (Ejemplos 1-5).

1.1.2. Caracterización de los PPEs

El peso molecular promedio en peso (Mw) y el contenido en epoxi de los PPE obtenidos, medido como peso equivalente de epoxi, expresado como porcentaje de EEW del GDE de partida, de los PPE obtenidos tras el procedimiento definido anteriormente se controló analíticamente a lo largo del tiempo usando, respectivamente, un instrumento de GPC equipado con un detector de dispersión de luz y una valoración cuantitativa con HCl como se ha descrito anteriormente. Antes de cada análisis, la reacción de autopolimerización del GDE se detuvo mediante la 50 adición de una solución de ácido clorhídrico 1 M y PBS para neutralizar el catalizador alcalino y restaurar el pH de la solución de poliglicerol poliglicidil éter a 7,0.

Los valores del peso molecular promedio (MW) y del EEW del poliglicerol poliglicidil éter (PPE) obtenido para cada combinación de temperatura y tiempo se presentan en la tabla 1.

Tabla 1

Número de PPE	[1,3-GDE] (% p/p)	[NaOH] (mol/l)	Temp. (°C)	Tiempo (min)	MW promedio de PPE (g/mol)	PPE EEW (g/eq)	Epóxidos (meq/g)
PPE 1	10,00	1,00	20	3	3736	581	1,720
PPE 2	10,00	1,00	30	1	2449	408	2,450
PPE 3	10,00	1,00	30	0,5	937	234	4,268
PPE 4	10,00	0,50	20	1	684	155	6,556
PPE 5	10,00	0	20	3	204	102	9,780

1.2. Conjugado de anestésico local con ácido hialurónico reticulado con PPE

1.2.1. Conjugado no esterilizado

5 1.2.1.1. Procedimiento de preparación

1.2.1.1.1. Procedimiento de preparación del ácido hialurónico reticulado con PPE

Los ácidos hialurónicos reticulados con PPE se prepararon siguiendo el procedimiento que se define a continuación:

10

Etapa A. Preparación del PPE 1-5 siguiendo el procedimiento descrito anteriormente.

Etapa B: Preparación del ácido hialurónico reticulado

15 Alternativa B1: El polvo seco de ácido hialurónico (AH) se disolvió paulatinamente a temperatura ambiente (25 °C) en una porción de la solución A (o se añadió directamente a la solución C3) para formar una solución alcalina que contenía del 5 al 15 por ciento de AH hidratado en peso en función del peso total de la solución (solución B).

La solución C3 se añade entonces a la solución B para proporcionar una solución alcalina con una concentración de hidróxido en la solución final en el intervalo de 0,25 y 0,75 M y con una relación de AH y PPE del 2 al 12,5 % en peso (expresada como relación en peso de PPE respecto al polisacárido seco).

20

Alternativa B2: La solución C3 se añade entonces a la solución B para proporcionar una solución alcalina con una concentración de hidróxido en la solución final en el intervalo de 0,25 y 0,75 M, una concentración de AH en la solución final en el intervalo del 8 al 10 % en peso en relación con el peso total, y una concentración de PPE en la solución final en el intervalo del 0,2 al 1 % en peso en relación con el peso total. La relación expresada como relación en peso del

25

La solución alcalina resultante, que consiste en ácido hialurónico (AH), PPE y NaOH se mezcla luego a fondo a temperatura ambiente. A continuación, la solución homogénea se deja reaccionar a una temperatura controlada en el intervalo entre 20 y 50 °C durante un período comprendido de 1 a 48 horas.

30

Etapa C: Purificación y aislamiento del polisacárido reticulado

El ácido hialurónico reticulado con PPE (hidrogel) se lavó a continuación con una solución acuosa ácida (ácido clorhídrico 1 M y PBS) para eliminar los materiales sin reaccionar y los subproductos, para neutralizar el catalizador alcalino y restaurar el pH del ácido hialurónico reticulado con PPE (hidrogel) a 6,5-7,4 por intercambio iónico y para

35

alcanzar la concentración final deseada de AH en el hidrogel de ácido hialurónico reticulado con PPE de 1 a 50 mg/ml, como se muestra en las Tablas siguientes.

En puntos de regulación fijos (es decir, a las 12, 24, 36 y 48 horas), se extrajo una porción (1 gramo) del hidrogel y se analizó usando las mismas técnicas usadas para la determinación de los parámetros de los productos finales que se

40

presentan en las tablas 2-15 siguientes. En particular, la concentración de poligliceroles libres en el AH reticulado con PPE expresada en mg/ml, y su estructura química se evaluaron mediante SEC/UV/MS.

1.2.1.1.2. Adición del anestésico local al ácido hialurónico reticulado con PPE

45 Los uno o más agentes anestésicos locales como polvo seco de sal de clorhidrato se disolvieron paulatinamente a temperatura ambiente (25 °C) en una porción de solución salina tamponada con fosfato para formar una solución anestésica local que contiene del 1 al 20 por ciento de anestésico local en peso en función del peso total de la solución que tiene un pH fisiológico aceptable (solución D).

La solución D se añade luego y se mezcla con el hidrogel de ácido hialurónico reticulado con PPE lavado obtenido en la sección anterior para alcanzar la concentración final deseada de AH y anestésico local (AL) en el hidrogel de ácido

50

hialurónico reticulado con PPE, respectivamente, de 1 a 50 mg/ml para el AH y de 0,1 a 10 mg/ml para el anestésico local.

El ácido hialurónico reticulado con PPE (hidrogel) que contiene el anestésico local puede deshidratarse opcionalmente al vacío a 30 °C o liofilizarse (congelarse en seco) y almacenarse para su posterior uso o análisis.

55

1.2.2. Conjugado esterilizado

1.2.2.1. Procedimiento de preparación

60 El ácido hialurónico reticulado con PPE (hidrogel) obtenido en la sección anterior, que contenía el anestésico local, se cargó en jeringas y se esterilizó con vapor en autoclave siguiendo los procedimientos aceptados por la farmacopea que figuran en la norma EN ISO 17665-1, Esterilización de productos sanitarios - Calor húmedo - Parte 1: requisitos para el desarrollo, validación y control rutinario de un procedimiento de esterilización para dispositivos médicos (por ejemplo, 15 min a 121 °C).

El ácido hialurónico reticulado con PPE (hidrogel) que contiene el anestésico local puede deshidratarse opcionalmente al vacío a 30 °C o liofilizarse (congelarse en seco) y almacenarse para su posterior uso o análisis.

1.2.2.2. Caracterización del ácido hialurónico reticulado con PPE Ej. 1-70

5

La composición química de los conjugados esterilizados y no esterilizados de ácido hialurónico reticulado con PPE y anestésico local (lidocaína, mepivacaína y articaína) (como se ha preparado anteriormente), se muestra en las Tablas 2-7.

10 Tabla 2

Ej.	Conjugado NO ESTERILIZADO que contiene AH reticulado con PPE y LIDOCAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. PG libre ^(b)	PG libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B ^(d)	pKa ^s
1	25	PPE 1	0,2003	2,126	1129+3129	7,4	3	59,03	7,24
2	25	PPE 2	0,2657	0,650	611+1944	7,4	3	50,91	7,38
3	25	PPE 3	0,3419	0,374	314+1129	7,4	3	44,29	7,50
4	15	PPE 4	0,1607	0,217	314+1129	7,4	3	43,09	7,52
5	25	PPE 4	0,3512	0,343	314+1129	7,4	3	37,23	7,63
6	15	PPE 5	0,1636	0,193	314+1129	7,4	3	46,40	7,46
7	25	PPE 5	0,3555	0,323	314+1129	7,4	3	44,52	7,50
8	25	PPE 5	0,3576	0,341	314+1129	7,0	3	16,80	7,69
9	15	PPE 3	0,1575	0,225	314+1129	7,4	3	38,73	7,60
10	20	PPE 3	0,2431	0,306	314+1129	7,4	3	40,77	7,56
11	30	PPE 3	0,4369	0,409	314+1129	7,4	3	44,61	7,49
12	25	PPE 3	0,3461	0,374	314+1129	7,4	1	45,29	7,48
13	25	PPE 3	0,3398	0,374	314+1129	7,4	9	41,40	7,55
14	25	PPE 3	0,3400	0,374	314+1129	7,2	3	30,02	7,57
15	25	PPE 3	0,3453	0,374	314+1129	7,0	3	19,83	7,61

Tabla 3

Ej.	Conjugado ESTERILIZADO que contiene AH reticulado con PPE y LIDOCAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. PG libre ^(b)	PG libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B ^(d)	pKa ^s
16	25	PPE 1	0,1624	2,497	1129+2310	7,4	3	62,41	7,18
17	25	PPE 2	0,2163	0,774	611+1629	7,4	3	54,44	7,32
18	25	PPE 3	0,2779	0,452	314+759	7,4	3	48,70	7,44
19	15	PPE 4	0,1337	0,266	314+759	7,4	3	46,58	7,46
20	25	PPE 4	0,2850	0,426	314+759	7,4	3	40,59	7,57
21	15	PPE 5	0,1357	0,243	314+759	7,4	3	49,93	7,40
22	25	PPE 5	0,2882	0,412	314+759	7,4	3	48,04	7,43
23	25	PPE 5	0,2904	0,412	314+759	7,0	3	18,87	7,63
24	15	PPE 3	0,1317	0,276	314+759	7,4	3	42,13	7,54
25	20	PPE 3	0,1984	0,380	314+759	7,4	3	44,22	7,50
26	30	PPE 3	0,3606	0,515	314+759	7,4	3	48,13	7,43
27	25	PPE 3	0,2701	0,452	314+759	7,4	1	48,81	7,42
28	25	PPE 3	0,2856	0,452	314+759	7,4	9	35,58	7,66
29	25	PPE 3	0,2701	0,452	314+759	7,2	3	33,07	7,51
30	25	PPE 3	0,2856	0,452	314+759	7,0	3	22,17	7,55

15 Tabla 4

Ej.	Conjugado NO ESTERILIZADO que contiene AH reticulado con PPE y MEPIVACAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. PG libre ^(b)	PG libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B ^(d)	pKa ^s
31	25	PPE 1	0,2003	2,126	1129+3129	7,4	3	60,56	7,21
32	25	PPE 2	0,2657	0,650	611+1944	7,4	3	52,74	7,35
33	25	PPE 3	0,3419	0,374	314+1129	7,4	3	49,41	7,41
34	15	PPE 3	0,1575	0,225	314+1129	7,4	3	41,71	7,55
35	20	PPE 3	0,2431	0,306	314+1129	7,4	3	41,82	7,54
36	30	PPE 3	0,4369	0,409	314+1129	7,4	3	47,51	7,44
37	25	PPE 3	0,3461	0,374	314+1129	7,4	1	49,47	7,41

Ej.	Conjugado NO ESTERILIZADO que contiene AH reticulado con PPE y MEPIVACAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. PG libre ^(b)	PG libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B ^(d)	pKa ^s
38	25	PPE 3	0,3398	0,374	314÷1129	7,4	9	44,51	7,50
39	25	PPE 3	0,3400	0,374	314÷1129	7,2	3	33,83	7,49
40	25	PPE 3	0,3453	0,374	314÷1129	7,0	3	22,38	7,54

Tabla 5

Ej.	Conjugado ESTERILIZADO que contiene AH reticulado con PPE y MEPIVACAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. PG libre ^(b)	PG libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B ^(d)	pKa ^s
41	25	PPE 1	0,1627	2,497	1129÷2310	7,4	3	64,74	7,14
42	25	PPE 2	0,2163	0,774	611÷1629	7,4	3	57,17	7,27
43	25	PPE 3	0,2779	0,452	314÷759	7,4	3	53,88	7,33
44	15	PPE 3	0,1317	0,276	314÷759	7,4	3	46,11	7,47
45	20	PPE 3	0,1984	0,380	314÷759	7,4	3	46,23	7,47
46	30	PPE 3	0,3606	0,515	314÷759	7,4	3	51,98	7,37
47	25	PPE 3	0,2701	0,452	314÷759	7,4	1	53,94	7,33
48	25	PPE 3	0,2856	0,452	314÷759	7,4	9	48,96	7,42
49	25	PPE 3	0,2701	0,452	314÷759	7,2	3	37,95	7,41
50	25	PPE 3	0,2856	0,452	314÷759	7,0	3	25,65	7,46

Tabla 6

Ej.	Conjugado NO ESTERILIZADO que contiene AH reticulado con PPE y ARTICAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. PG libre ^(b)	PG libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B ^(d)	pKa ^s
51	25	PPE 1	0,2003	2,126	1129÷3129	7,4	3	67,81	7,08
52	25	PPE 2	0,2657	0,650	611÷1944	7,4	3	64,43	7,14
53	25	PPE 3	0,3419	0,374	314÷1129	7,4	3	56,79	7,28
54	15	PPE 3	0,1575	0,225	314÷1129	7,4	3	53,74	7,33
55	20	PPE 3	0,2431	0,306	314÷1129	7,4	3	56,85	7,28
56	30	PPE 3	0,4369	0,409	314÷1129	7,4	3	60,23	7,22
57	25	PPE 3	0,3461	0,374	314÷1129	7,4	1	61,28	7,20
58	25	PPE 3	0,3398	0,374	314÷1129	7,4	9	56,57	7,29
59	25	PPE 3	0,3400	0,374	314÷1129	7,2	3	40,94	7,36
60	25	PPE 3	0,3453	0,374	314÷1129	7,0	3	28,18	7,41

5

Tabla 7

Ej.	Conjugado ESTERILIZADO que contiene AH reticulado con PPE y ARTICAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. PG libre ^(b)	PG libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B ^(d)	pKa ^s
61	25	PPE 1	0,1624	2,497	1129÷2310	7,4	3	70,07	7,03
62	25	PPE 2	0,2163	0,774	611÷1629	7,4	3	66,81	7,10
63	25	PPE 3	0,2779	0,452	314÷759	7,4	3	59,36	7,24
64	15	PPE 3	0,1317	0,276	314÷759	7,4	3	56,36	7,29
65	20	PPE 3	0,1984	0,380	314÷759	7,4	3	59,42	7,23
66	30	PPE 3	0,3606	0,515	314÷759	7,4	3	62,73	7,17
67	25	PPE 3	0,2701	0,452	314÷759	7,4	1	63,75	7,15
68	25	PPE 3	0,2856	0,452	314÷759	7,4	9	59,14	7,24
69	25	PPE 3	0,2701	0,452	314÷759	7,2	3	43,51	7,31
70	25	PPE 3	0,2856	0,452	314÷759	7,0	3	30,65	7,35

(a) Concentración de AH en el conjugado de AH reticulado con PPE expresada como mg/ml.

10 (b) Concentración de políglicerol libre en el AH reticulado con PPE expresada en mg/ml, y su estructura química se evaluaron mediante SEC/UV/MS.

(c) Concentración de AL (anestésico local) en el AH reticulado con PPE expresada en mg/ml, evaluada por GC/MS y por SEC/UV/MS.

15 (d) se calculó el porcentaje de la forma neutra B del anestésico local (determinado mediante GC/MS) sobre la cantidad total de anestésico local B+BH⁺ (determinado mediante SEC/UV/MS) en el conjugado que contenía AH reticulado con PPE y anestésico local, tanto para el no esterilizado como para el esterilizado durante 15 min a 121 °C.

En resumen, el conjugado de AH reticulado con PPE de la presente invención se obtuvo usando el PPE a diferentes MW y EEW como se presenta en la tabla 1. El conjugado de AH reticulado con PPE varió de 15 a 30 mg/ml de concentración de ácido hialurónico reticulado, lo que significa mostrar diferentes grados de reticulación descritos en las tablas correspondientes anteriores. Como se ha mencionado anteriormente, el conjugado de AH reticulado con PPE contiene poligliceroles cuyo MW y concentración se midieron por SEC/UV/MS. Además, el conjugado de AH reticulado con PPE de la presente invención contiene un porcentaje de la forma neutra **B** del anestésico local muy superior al valor termodinámico predicho a partir de la ecuación de Henderson-Hasselbalch, p. ej., a pH 7,4. Por lo tanto, el pK_a^S calculado experimentalmente para el anestésico local a un valor fijo de pH calculado mediante la ecuación de Henderson-Hasselbalch, usando las concentraciones experimentales de **B** y BH^+ es muy inferior al pK_a termodinámico.

Los datos experimentales del % de B en comparación con el % de B predicho se resumen en la siguiente tabla:

Anestésico local	Conjugado de ácido hialurónico reticulado con PPE y anestésico local			
	Forma de B (%) en peso		pKa	
	Calculado experimentalmente	Valor predicho ^(a)	pK_a^S	pK_a^T
lidocaína	37,23-62,41	24,03	7,18-7,69	7,9
mepivacaína	41,71-64,74	28,47	7,14-7,55	7,8
articaína	53,74-70,07	38,69	7,03-7,41	7,6

- (a) Valor predicho a partir de la ecuación de Henderson-Hasselbalch, p. ej., a pH 7,4.
 pK_a^S corresponde al pK_a aparente calculado experimentalmente.
 pK_a^T corresponde al pK_a termodinámico

Para todos los anestésicos locales explorados, pero sin limitaciones en su estructura química, inesperadamente la forma neutra biodisponible **B** en el hidrogel de ácido hialurónico reticulado con PPE, muestran un porcentaje muy superior al predicho, debido a la estabilización de esta forma por varios factores. De hecho, como se muestra en los datos experimentales anteriores en el presente documento (cf. Tablas 2-7), el valor pK_a termodinámico (calculado a partir de la relación B/BH^+) disminuye del 2,5 % al 10 % de su valor predicho. En otras palabras, para cada anestésico local contenido en el hidrogel de la presente invención, su pK_a experimental es del 2,5 % al 10 % más bajo que el pK_a termodinámico predicho respectivamente. Desde el punto de vista de la forma neutra biodisponible del agente anestésico local, la forma B aumenta del 40 % al 160 % de su valor conocido en el estado de la técnica (valor de pK_a termodinámico predicho).

Por lo tanto, sin quedar ligados a teoría alguna, parece que la estabilización de la forma neutra **B** aparece correlacionada con el carácter anfílico del PPE hiperramificado usado como reticulante, su peso molecular y el grado de reticulación, la concentración y el peso molecular de los poligliceroles libres derivados de la hidrólisis natural en una relación compleja debido al efecto sinérgico entre estos factores.

2.1.3. Conjugado comparativo de anestésico local con ácido hialurónico reticulado con BDDE (Ej. comparativo 71-150)

Los conjugados comparativos de ácido hialurónico reticulado con BDDE y anestésico local son los preparados a partir de BDDE en lugar de PPE y la adición adicional de glicerol o manitol al conjugado así obtenido.

2.1.3.1. Procedimiento de preparación

Los pellets de hidróxido de sodio (NaOH) se disolvieron en agua para formar una solución alcalina que contenía un 4 por ciento de NaOH (1 M) en peso en función del peso total de la solución (Solución A). El ácido hialurónico se disolvió paulatinamente a temperatura ambiente (25 °C) en una porción de la solución A para formar una solución alcalina que contenía del 5 al 15 por ciento de AH hidratado en peso en función del peso total de la solución (Solución B).

El BDDE se disolvió a temperatura ambiente en agua destilada para formar una solución neutra que contenía del 0,2 al 2 por ciento de BDDE en peso en función del peso total de la solución (Solución C1). Opcionalmente, el BDDE se disolvió a temperatura ambiente en una porción de la solución A para formar una solución alcalina que contenía del 1 al 10 por ciento de BDDE en peso en función del peso total de la solución (Solución C2). La solución C (neutra C1 o alcalina C2) se añade entonces a la solución B para proporcionar una solución alcalina con una concentración de hidróxido en la solución final en el intervalo de 0,25 y 0,75 M con la relación deseada de AH y BDDE. La solución alcalina resultante, que consiste en AH, BDDE y NaOH se mezcla luego a fondo a temperatura ambiente. A continuación, la solución homogénea se deja reaccionar a una temperatura controlada en el intervalo entre 20 y 50 °C durante un período comprendido de 30 min a 48 horas.

El ácido hialurónico reticulado con BDDE comparativo (hidrogel) se lavó a continuación con una solución acuosa ácida (ácido clorhídrico 1 M y PBS) de 48 a 120 horas para eliminar los materiales sin reaccionar y los subproductos, para neutralizar el catalizador alcalino y restaurar el pH del hidrogel a 6,5-7,4 por intercambio iónico y para alcanzar la concentración de AH en el ácido hialurónico reticulado con BDDE comparativo (hidrogel) de 1 a 50 mg/ml. Al ácido hialurónico reticulado con BDDE comparativo lavado así obtenido, el glicerol o, como alternativa, el manitol se añadió directamente al hidrogel lavado.

Los uno o más agentes anestésicos locales como polvo seco de sal de clorhidrato se disolvieron paulatinamente a temperatura ambiente (25 °C) en una porción de solución salina tamponada con fosfato para formar una solución anestésica local que contiene del 1 al 20 por ciento de anestésico local en peso en función del peso total de la solución que tiene un pH fisiológico aceptable (solución D). La solución D se añade luego y se mezcla al hidrogel de ácido hialurónico reticulado con BDDE lavado que contiene además el glicerol o el manitol obtenidos en la sección anterior para alcanzar la concentración final deseada de AH (de 1 a 50 mg/ml), para el glicerol o el manitol (de 1 a 50 mg/ml) y el anestésico local (AL) (de 0,1 a 10 mg/ml)

El ácido hialurónico reticulado con BDDE comparativo (hidrogel) que contenía el glicerol o manitol libres y el anestésico local se cargó en jeringas y se esterilizó con vapor en autoclave siguiendo los procedimientos aceptados por la farmacopea que figuran en la norma EN ISO 17665-1, Esterilización de productos sanitarios - Calor húmedo - Parte 1: requisitos para el desarrollo, validación y control rutinario de un procedimiento de esterilización para productos sanitarios (por ejemplo, 15 min a 121 °C).

El ácido hialurónico reticulado con BDDE comparativo (hidrogel) que contiene el glicerol o manitol libres y el anestésico local podría deshidratarse opcionalmente al vacío a 30 °C o liofilizarse (congelarse en seco) y almacenarse para su posterior uso o análisis.

2.1.3.2. Caracterización del conjugado comparativo de ácido hialurónico reticulado con BDDE, anestésico local y glicerol o manitol libres

La composición química del conjugado comparativo de ácido hialurónico reticulado con BDDE que contiene anestésico local se describe en las Tablas 8-15.

Tabla 8

Ej. comp.	Conjugado comparativo NO ESTERILIZADO AH reticulado con BDDE que contiene GLICEROL y LIDOCAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. Gly libre ^(b)	Gly libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B	pKa ^s
71	25	BDDE	0,3419	25	74÷166	7,4	3	23,82	7,90
72	25	BDDE	0,3419	5	74÷166	7,4	3	23,81	7,91
73	15	BDDE	0,2008	0,5	74÷166	7,4	3	23,69	7,91
74	20	BDDE	0,2655	0,5	74÷166	7,4	3	23,54	7,91
75	25	BDDE	0,3419	0,5	74÷166	7,4	3	24,09	7,90
76	30	BDDE	0,4522	0,5	74÷166	7,4	3	24,47	7,89
77	25	BDDE	0,2374	0,5	74÷166	7,4	1	25,06	7,88
78	25	BDDE	0,3389	0,5	74÷166	7,4	9	21,90	7,95
79	25	BDDE	0,3389	0,5	74÷166	7,2	3	16,33	7,91
80	25	BDDE	0,3389	0,5	74÷166	7,0	3	11,21	7,90

Tabla 9

Ej. comp.	Conjugado comparativo ESTERILIZADO AH reticulado con BDDE que contiene GLICEROL y LIDOCAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. Gly libre ^(b)	Gly libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B	pKa ^s
81	25	BDDE	0,2786	25	74÷166	7,4	3	24,12	7,90
82	25	BDDE	0,2786	5	74÷166	7,4	3	24,26	7,90
83	15	BDDE	0,1615	0,5	74÷166	7,4	3	24,02	7,90
84	20	BDDE	0,2155	0,5	74÷166	7,4	3	24,22	7,90
85	25	BDDE	0,2786	0,5	74÷166	7,4	3	24,06	7,90
86	30	BDDE	0,3724	0,5	74÷166	7,4	3	24,53	7,89
87	25	BDDE	0,1989	0,5	74÷166	7,4	1	25,28	7,87
88	25	BDDE	0,2701	0,5	74÷166	7,4	9	22,18	7,95
89	25	BDDE	0,2701	0,5	74÷166	7,2	3	16,28	7,91
90	25	BDDE	0,2701	0,5	74÷166	7,0	3	11,03	7,91

Tabla 10

Ej. comp.	Conjugado comparativo NO ESTERILIZADO								
	AH reticulado con BDDE que contiene GLICEROL y MEPIVACAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. Gly libre ^(b)	Gly libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B	pKa ^s
91	25	BDDE	0,3419	25	74÷166	7,4	3	28,42	7,80
92	25	BDDE	0,3419	5	74÷166	7,4	3	27,34	7,82
93	15	BDDE	0,2008	0,5	74÷166	7,4	3	28,18	7,81
94	20	BDDE	0,2655	0,5	74÷166	7,4	3	27,65	7,82
95	25	BDDE	0,3419	0,5	74÷166	7,4	3	28,48	7,80
96	30	BDDE	0,4522	0,5	74÷166	7,4	3	28,46	7,80
97	25	BDDE	0,2374	0,5	74÷166	7,4	1	29,41	7,78
98	25	BDDE	0,3389	0,5	74÷166	7,4	9	26,89	7,83
99	25	BDDE	0,3389	0,5	74÷166	7,2	3	19,94	7,80
100	25	BDDE	0,3389	0,5	74÷166	7,0	3	13,28	7,81

Tabla 11

Ej. comp.	Conjugado comparativo ESTERILIZADO								
	AH reticulado con BDDE que contiene GLICEROL y MEPIVACAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. Gly libre ^(b)	Gly libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B	pKa ^s
101	25	BDDE	0,2786	25	74÷166	7,4	3	28,76	7,79
102	25	BDDE	0,2786	5	74÷166	7,4	3	27,83	7,81
103	15	BDDE	0,1615	0,5	74÷166	7,4	3	28,55	7,80
104	20	BDDE	0,2155	0,5	74÷166	7,4	3	28,41	7,80
105	25	BDDE	0,2786	0,5	74÷166	7,4	3	28,45	7,80
106	30	BDDE	0,3724	0,5	74÷166	7,4	3	28,53	7,80
107	25	BDDE	0,1989	0,5	74÷166	7,4	1	29,65	7,78
108	25	BDDE	0,2701	0,5	74÷166	7,4	9	27,22	7,83
109	25	BDDE	0,2701	0,5	74÷166	7,2	3	19,89	7,81
110	25	BDDE	0,2701	0,5	74÷166	7,0	3	13,07	7,82

5 Tabla 12

Ej. comp.	Conjugado comparativo NO ESTERILIZADO								
	AH reticulado con BDDE que contiene GLICEROL y ARTICAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. Gly libre ^(b)	Gly libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B	pKa ^s
111	25	BDDE	0,3419	25	74÷166	7,4	3	37,94	7,61
112	25	BDDE	0,3419	5	74÷166	7,4	3	38,43	7,60
113	15	BDDE	0,2008	0,5	74÷166	7,4	3	38,02	7,61
114	20	BDDE	0,2655	0,5	74÷166	7,4	3	37,62	7,62
115	25	BDDE	0,3419	0,5	74÷166	7,4	3	38,68	7,60
116	30	BDDE	0,4522	0,5	74÷166	7,4	3	38,60	7,60
117	25	BDDE	0,2374	0,5	74÷166	7,4	1	38,42	7,60
118	25	BDDE	0,3389	0,5	74÷166	7,4	9	37,66	7,62
119	25	BDDE	0,3389	0,5	74÷166	7,2	3	28,28	7,60
120	25	BDDE	0,3389	0,5	74÷166	7,0	3	20,04	7,60

Tabla 13

Ej. comp.	Conjugado comparativo ESTERILIZADO								
	AH reticulado con BDDE que contiene GLICEROL y ARTICAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. Gly libre ^(b)	Gly libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B	pKa ^s
121	25	BDDE	0,2786	25	74÷166	7,4	3	38,33	7,61
122	25	BDDE	0,2786	5	74÷166	7,4	3	39,02	7,59
123	15	BDDE	0,1615	0,5	74÷166	7,4	3	38,45	7,60
124	20	BDDE	0,2155	0,5	74÷166	7,4	3	38,51	7,60
125	25	BDDE	0,2786	0,5	74÷166	7,4	3	38,64	7,60
126	30	BDDE	0,3724	0,5	74÷166	7,4	3	38,68	7,60
127	25	BDDE	0,1989	0,5	74÷166	7,4	1	38,69	7,60
128	25	BDDE	0,2701	0,5	74÷166	7,4	9	38,05	7,61

Ej. comp.	Conjugado comparativo ESTERILIZADO AH reticulado con BDDE que contiene GLICEROL y ARTICAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. Gly libre ^(b)	Gly libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B	pKa ^s
129	25	BDDE	0,2701	0,5	74+166	7,2	3	28,21	7,61
130	25	BDDE	0,2701	0,5	74+166	7,0	3	19,75	7,61

Tabla 14

Ej. comp.	Conjugado comparativo NO ESTERILIZADO AH reticulado con BDDE que contiene MANITOL y LIDOCAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. Man libre ^(d)	Man libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B	pKa ^s
131	25	BDDE	0,3419	25	146+182	7,4	3	24,05	7,90
132	25	BDDE	0,3419	5	146+182	7,4	3	24,10	7,90
133	15	BDDE	0,2008	0,5	146+182	7,4	3	24,06	7,90
134	20	BDDE	0,2655	0,5	146+182	7,4	3	24,16	7,90
135	25	BDDE	0,3419	0,5	146+182	7,4	3	24,00	7,90
136	30	BDDE	0,4522	0,5	146+182	7,4	3	24,75	7,88
137	25	BDDE	0,2374	0,5	146+182	7,4	1	24,89	7,88
138	25	BDDE	0,3389	0,5	146+182	7,4	9	24,01	7,90
139	25	BDDE	0,3389	0,5	146+182	7,2	3	16,46	7,91
140	25	BDDE	0,3389	0,5	146+182	7,0	3	10,66	7,92

Tabla 15

Ej. comp.	Conjugado comparativo ESTERILIZADO AH reticulado con BDDE que contiene MANITOL y LIDOCAÍNA								
	Conc. AH ^(a)	Reticulante	G.R. (%)	Conc. Man libre ^(d)	Man libre Intervalo de MW	pH	Conc. AL ^(c)	% de B	pKa ^s
141	25	BDDE	0,2786	25	146+182	7,4	3	24,05	7,90
142	25	BDDE	0,2786	5	146+182	7,4	3	24,10	7,90
143	15	BDDE	0,1615	0,5	146+182	7,4	3	24,06	7,90
144	20	BDDE	0,2155	0,5	146+182	7,4	3	24,16	7,90
145	25	BDDE	0,2786	0,5	146+182	7,4	3	24,00	7,90
146	30	BDDE	0,3724	0,5	146+182	7,4	3	24,75	7,88
147	25	BDDE	0,1989	0,5	146+182	7,4	1	24,89	7,88
148	25	BDDE	0,2701	0,5	146+182	7,4	9	24,01	7,90
149	25	BDDE	0,2701	0,5	146+182	7,2	3	16,46	7,91
150	25	BDDE	0,2701	0,5	146+182	7,0	3	10,66	7,92

5

(a) concentración de AH en el AH reticulado con BDDE comparativo expresada como mg/ml

(b) concentración de glicerol libre en el AH reticulado con BDDE comparativo expresada como mg/ml, y su estructura química se evaluaron mediante SEC/UV/MS.

(c) concentración de anestésico local (AL) en el AH reticulado con BDDE comparativo expresada como mg/ml, medida por GC/MS y por SEC/UV/MS.

10 (d) concentración de manitol libre en el AH reticulado con BDDE comparativo expresada como mg/ml (medida por SEC/UV/MS).

En resumen, el conjugado de AH reticulado con BDDE comparativo que queda fuera del ámbito de la presente invención se obtuvo usando diferentes cantidades de BDDE. El conjugado de AH reticulado con BDDE comparativo varió de 15 a 30 mg/ml de concentración de ácido hialurónico reticulado, lo que significa mostrar diferentes grados de reticulación descritos en las tablas correspondientes anteriores. Como se ha mencionado anteriormente, el conjugado de AH reticulado con BDDE comparativo contiene polioles libres (glicerol o manitol) en el intervalo de 0,5 a 25 mg/ml. Además, el conjugado de AH reticulado con BDDE comparativo contiene un porcentaje de la forma neutra B del anestésico local comparable al valor termodinámico predicho a partir de la ecuación de Henderson-Hasselbalch, p. ej., a pH 7,4. Por lo tanto, el pKa^s calculado experimentalmente para el anestésico local a un valor fijo de pH calculado mediante la ecuación de Henderson-Hasselbalch, usando las concentraciones experimentales de B y BH⁺ no es estadísticamente diferente del pKa termodinámico.

25

2.1.4. Actividad analítica

2.1.4.1. Preparación de la solución de la muestra y elaboración de los datos

5 El análisis cuantitativo se llevó a cabo por triplicado en tres lotes diferentes de cada producto, los resultados se presentaron como valor medio $\pm$ desviación típica. Una alícuota del producto a analizar se diluyó 50 veces con agua obteniendo la "Solución de muestra".

10 Para las técnicas analíticas cromatográficas (GC/MS y SEC/UV/MS), los compuestos se consideraron únicamente si el área del pico en las soluciones de muestra era 3 veces mayor que la relación señal/ruido, impuesta como parámetro en el software del instrumento. La cuantificación se realizó como diferencia entre el área del pico en la solución de muestra y el área del pico de la solución en blanco.

15 Para las técnicas que usan el detector de masas, la concentración de cada compuesto se calculó por la abundancia de sus señales de masa a partir del cromatograma de iones totales (TIC), para las técnicas que usan el detector de UV-Vis, la concentración de cada compuesto se calculó mediante la ecuación derivada de la curva de calibración obtenida por varias concentraciones del compuesto puro.

20 Para evaluar que los métodos analíticos GC/MS y SEC/UV/MS son adecuados para la detección de los compuestos de la muestra, se eligieron patrones de referencia entre los agentes anestésicos locales más habituales y se analizaron posteriormente.

2.1.4.2. Método cuantitativo para la medición de los compuestos semivolátiles usando un instrumento cromatográfico GC/MS para la fracción neutra de los anestésicos locales.

25

Preparación de muestras

Una alícuota de la "Solución de muestra" se extrajo 1:1 con CH_2Cl_2 y se analizó la fase orgánica.

30 Análisis de datos

Se evaluaron los cromatogramas obtenidos del análisis de las soluciones de muestra y se presentaron todos los picos detectados con señal/ruido superior a 3 y se intentó una identificación usando la biblioteca MS (Wiley Registry 11ª Edición/NIST 2017 Mass Spectral Library, disponible en el sitio web <https://webbook.nist.gov/chemistry/> el 28 de junio de 2021). Se usó una solución de fenantreno-d10 (QL= 1 $\mu\text{g/ml}$) como patrón interno para la cuantificación de los

35 compuestos.

Resultados

40 Los resultados cuantitativos del método analítico del ácido hialurónico reticulado con BDDE comparativo, y del ácido hialurónico reticulado con PPE de la presente invención se resumieron en las Tablas descritas anteriormente. La concentración de la forma neutra del anestésico local **B** se combinó con la concentración de la forma ionizada **BH⁺** hallada mediante SEC/UV/MS con el fin de obtener el porcentaje de B sobre el AL total (**B+BH⁺**), el porcentaje de B y el pK_a^S experimental presentados en las tablas descritas anteriormente.

45 2.1.4.3 Método cuantitativo para la medición de los compuestos no volátiles usando un instrumento cromatográfico SEC/UV/MS para la cantidad total de anestésicos locales y glicerol libre, poliglicerol y fragmentos de manitol y su estructura química.

Preparación de muestras

50

Se analizó una alícuota de la "Solución de muestra" mediante SEC/UV/MS sin tratamientos adicionales.

Análisis de datos

55 Se evaluaron los cromatogramas obtenidos del análisis de las soluciones de muestra y se presentaron todos los picos detectados con señal/ruido superior a 3 y se intentó una identificación usando la biblioteca MS (Wiley Registry 11ª Edición/NIST 2017 Mass Spectral Library). Se usó una solución de reserpina (QL= 1 $\mu\text{g/ml}$) como patrón interno para la cuantificación de los compuestos.

60 La estructura química de glicerol libre, poligliceroles y fragmentos de manitol se evaluó usando espectroscopia de masas como detector del SEC, los espectros de masas de todos los picos detectados se compararon con las referencias usando la biblioteca MS (Wiley Registry 11ª Edición/NIST 2017 Mass Spectral Library).

Resultados

Los resultados cuantitativos del método analítico del ácido hialurónico reticulado con BDDE comparativo, y del ácido hialurónico reticulado con PPE de la presente invención se resumieron en las Tablas anteriores.

- 5 La concentración de poligliceroles libres se expresa en mg/ml, la concentración de la forma ionizada del anestésico local BH^+ se combinó con la concentración de la forma neutra B hallada mediante GC/MS con el fin de obtener el porcentaje de B sobre el AL total ($B+BH^+$), el porcentaje de B y el pK_a^S experimental presentados en las tablas anteriores.

- 10 **2.1.4.4 El método cuantitativo para la determinación de la fracción neutra y la cantidad total de anestésicos locales usando el espectrofotómetro UV-Vis para la liberación cinética.**

Preparación de muestras

- 15 Se analizó una alícuota de la "Solución de muestra" mediante espectrofotómetro UV-Vis sin tratamientos adicionales para la determinación de la cantidad total de anestésicos locales ($B+BH^+$).

Una alícuota de la "Solución de muestra" se extrajo 1:1 con CH_2Cl_2 y la fase orgánica se analizó mediante espectrofotómetro UV-Vis para la determinación de la fracción neutra de anestésicos locales (B).

20

Análisis de datos

La concentración de cada compuesto se calculó mediante la ecuación derivada de la curva de calibración obtenida por varias concentraciones del compuesto puro.

25

2.1.5 liberación cinética del anestésico local

La liberación cinética del agente anestésico local a partir del ácido hialurónico reticulado con PPE de la presente invención, del ácido hialurónico reticulado con BDDE comparativo y de la solución acuosa (como control) se resumió a continuación.

30

Muestras:

Como control, se preparó una solución que contenía el anestésico local disolviendo a temperatura ambiente un anestésico local en polvo en solución salina tamponada con fosfato (PBS) para formar una solución salina tamponada con fosfato y anestésico local que contenía del 0,1 al 10 por ciento del anestésico local en peso en función del peso total de la solución, el pH de la solución se ajustó a 7,4 usando NaOH 0,2 M y HCl 0,2 M.

35

El ácido hialurónico con PPE no esterilizado y esterilizado (Ej. 3 y Ej. 18) y el ácido hialurónico reticulado con BDDE comparativo no esterilizado y esterilizado (Ej. comp. 85 y Ej. comp. 75) que contenía el anestésico local se usaron sin ningún otro tratamiento.

Método:

Se introdujeron 5 ml de cada muestra (control, PPE y AH reticulado con BDDE comparativo) que contenía el anestésico local en un dispositivo de diálisis SpectraPor® Float-A-Lyzer de 5 ml de tamaño y 20 kD de MWCO y se cerró. El tubo de diálisis se sumergió en un frasco de vidrio con tapón de rosca que contenía 245 ml de solución salina tamponada con fosfato (dilución 50 veces). La solución se agitó suavemente en un baño termostático a 37 °C hasta que el anestésico total se liberó totalmente y la concentración de anestésico local estuvo en equilibrio entre la muestra y la solución externa de PBS.

45

En un período de tiempo determinado, se extrajo una solución de muestra de la solución salina tamponada con fosfato externa y se analizó la cantidad total de anestésico local liberado usando el espectrofotómetro UV-Vis.

50

La concentración del anestésico local liberado se calculó usando la ecuación derivada de la curva de calibración obtenida por varias concentraciones del anestésico local puro. La curva de calibración con soluciones convencionales de anestésico local (de 3,0 µg/ml a 45 µg/ml) se obtuvo mediante un espectrofotómetro UV-Vis que usaba una célula de cuarzo de 1 cm de trayectoria óptica. Los espectros de absorción se adquirieron en el intervalo 200-300 nm.

55

Después 120 horas, una alícuota de la solución salina tamponada con fosfato externa se extrajo 1:1 con CH_2Cl_2 y la fase orgánica se analizó mediante el instrumento cromatográfico GC/MS descrito en la sección 2.1.4.2. y una alícuota de la solución salina tamponada con fosfato externa se analizó por SEC/UV/MS sin tratamientos adicionales mediante el instrumento cromatográfico SEC/UV/MS descrito en la sección 2.1.4.3.

Resultados:

El porcentaje de la cantidad total de 3mg/ml del anestésico local lidocaína del control de la solución salina tamponada, el ácido hialurónico reticulado con PPE no esterilizado y esterilizado (Ejemplos 3 y 18) y el BDDE comparativo no esterilizado y esterilizado (Ej. comparativo 85 y Ej. 75) tienen un grado de reticulación comparable.

60

El porcentaje de la cantidad total de lidocaína después de 1,2, 48 y 120 horas de liberación en agua del PBS, y el ácido hialurónico reticulado con PPE no esterilizado (Ejemplo 3) y BDDE comparativo no esterilizado (Ej. comp. 85) se resume en la Tabla 16 siguiente:

Tabla 16

LIBERACIÓN CINÉTICA DE LIDOCAÍNA A PARTIR DE ÁCIDO HIALURÓNICO RETICULADO NO ESTERILIZADO			
TIEMPO (h)	A partir de PBS (%) (CONTROL)	A partir de BDDE/AH (%) Ej. comp. 85	A partir de PPE/AH (%) Ej. 3
1	51,4±0,43	1,94±0,87	3,59±2,12
2	65,37±1,56	3,81±2,10	6,95±1,89
48	97,56±2,63	48,29±2,67	65,19±2,42
120	98,22±2,69	81,77±3,99	89,83±2,25

El porcentaje de la cantidad total de lidocaína después de 1,2, 48 y 120 horas de liberación en agua del PBS, y el ácido hialurónico reticulado con PPE esterilizado (Ejemplo 18) y BDDE comparativo esterilizado (Ej. comp. 75) se resume en la Tabla 17 siguiente:

Tabla 17

LIBERACIÓN CINÉTICA DE LIDOCAÍNA A PARTIR DE ÁCIDO HIALURÓNICO ESTERILIZADO			
TIEMPO (h)	A partir de PBS (%)	A partir de BDDE/AH (%) Ej. comp. 75	A partir de PPE/AH (%) Ej. 18
1	52,99±1,32	2,35±0,43	4,23±0,34
2	69,53±1,68	4,62±1,56	8,15±1,14
48	97,44±2,40	55,97±2,63	73,25±3,62
120	98,37±2,40	83,64±2,85	92,56±2,85

Por otra parte, la distribución de la forma neutra **B** sobre la cantidad total de lidocaína (**B+BH⁺**) después de 120 horas de liberación en una solución salina tamponada con fosfato (totalmente liberada) del ácido hialurónico reticulado con PPE no esterilizado y esterilizado y del ácido hialurónico reticulado con BDDE comparativo se describe en la tabla siguiente:

Tabla 18

Lidocaína liberada después de 120 h	B (%)	pKa ^S
A partir de PBS no esterilizado (CONTROL)	23,92	7,90
A partir de PBS esterilizado (CONTROL)	24,01	7,90
A partir de BDDE/AH no esterilizado (Ej. comp. 75)	24,45	7,89
A partir de BDDE/AH esterilizado (Ej. comp. 85)	24,06	7,90
A partir de PPE/AH no esterilizado (Ej. 3)	44,90	7,49
A partir de PPE/AH esterilizado (Ej. 18)	48,67	7,45

Nuevamente, la distribución de la forma neutra **B** sobre la cantidad total de lidocaína (**B+BH⁺**) después de 120 horas de liberación en una solución salina tamponada con fosfato (totalmente liberada) mostró que a partir del control (PBS) y del AH reticulado con BDDE comparativo no esterilizado y esterilizado, la forma neutra **B** de la lidocaína liberada es muy similar al valor termodinámico predicho a partir de la ecuación de Henderson-Hasselbalch y, en consecuencia, el pKa^S aparente no es estadísticamente diferente del pKa termodinámico (pKa^T=7,9). En cambio, del AH reticulado con PPE no esterilizado y esterilizado de la presente invención, la forma neutra **B** de la lidocaína liberada es mucho mayor que el valor termodinámico predicho a partir de la ecuación de Henderson-Hasselbalch y, en consecuencia, el pKa^S aparente es mucho menor que el pKa termodinámico, confirmando los resultados presentados en las tablas anteriores.

Por tanto, con respecto a todos los resultados mencionados anteriormente, se puede concluir que el comienzo de la acción de los anestésicos locales depende de su pKa, con el valor de pH fisiológico de 7,4, el anestésico local que tiene el comienzo de acción más corto es aquel cuyo pKa es el más cercano a 7,4, ya que su forma liposoluble y biodisponible será la que penetre en el epineuro y en la membrana neuronal, después de eso, permitiendo que la molécula del principio activo esté más rápidamente disponible para bloquear los canales de sodio. En otras palabras, el comienzo de acción depende de la relación B/BH⁺ (o % de B) en el momento de la inyección y de la tasa de conversión de BH⁺ a B, que podría estar influenciada *in vivo* por muchos factores. La constante de ionización (pKa), específica para cada anestésico, predice la proporción de moléculas que existe en cada uno de estos estados. El pH de la solución acuosa del anestésico y el pKa del anestésico local son, por lo tanto, los factores más importantes que influyen en el comienzo de acción de los anestésicos locales.

Por tanto, como se muestra en los datos experimentales (cf. Tablas 2-7), los hidrogeles Ej. 1, Ej. 2 y Ej. 3 tienen el comienzo de acción más rápido de la lidocaína a pH 7,24, pH 7,38 y pH 7,50, respectivamente. Mientras que, los hidrogeles comparativos conocidos en el estado de la técnica (cf. Tablas 8-15), el comienzo de acción más rápido es a pH 7,9 para la lidocaína, 7,8 para la mepivacaína y 7,6 para la articaína, respectivamente. Por lo tanto, todos los hidrogeles comparativos tienen el comienzo de acción más rápido a un pH superior a 7,4 que no se considera fisiológico para los hidrogeles inyectables de ácido hialurónico (6,9-7,4).

Resultados

- 10 El anestésico local (AL lidocaína) se liberó de cada muestra analizada a la solución externa de PBS en diferentes relaciones. Como se mostró en las Tablas 16-17, la solución de lidocaína en el control de PBS no esterilizado y esterilizado mostró la liberación más rápida y el 100 % de la lidocaína se liberó en 120 horas. Sin embargo, la liberación de lidocaína del ácido hialurónico reticulado con PPE no esterilizado y esterilizado de la presente invención fue más rápida que la del ácido hialurónico reticulado con BDDE comparativo no esterilizado y esterilizado, respectivamente.
- 15 Cabe destacar que el AH reticulado con PPE esterilizado de la presente invención tiene una liberación cinética de lidocaína ligeramente superior a la del AH reticulado con PPE no esterilizado (probablemente atribuida al menor grado de reticulación de los no esterilizados debido a la degradación térmica en el procedimiento de esterilización).

- Por lo tanto, los datos experimentales anteriores demostraron que el ácido hialurónico reticulado con PPE conjugado con anestésicos locales permite acortar el tiempo de comienzo de acción del anestésico local y, por tanto, alargar la duración de la acción anestésica; lo que significa un rápido comienzo de acción y eficacia *in vivo* de los anestésicos locales.
- 20

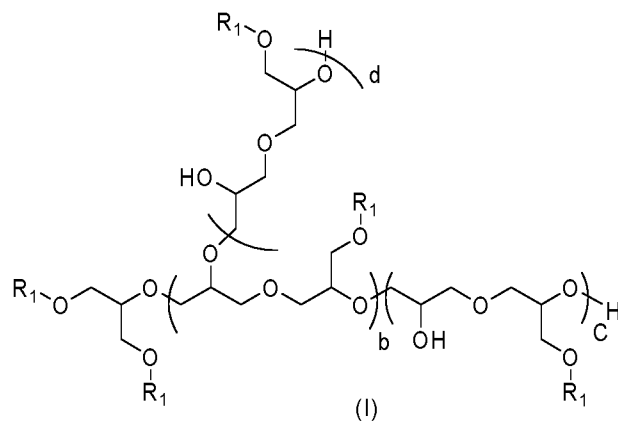
Listado de citas

- 25 1. He, Z., *et al.*, "Ultrasonication-assisted rapid determination of epoxide values in polymer mixtures containing epoxy resin". *Analytical Methods*, 2014, vol. 6(12), págs. 4257-4261.
2. cf. *Academic press Dictionary of Science and Technology*, 1992, pág. 531;
3. *A terminological Dictionary of the Pharmaceutical Sciences*. 2007, pág.190.
- 30 4. René. Levy *et al.* "Determination of thermodynamic dissociation constants of local anaesthetic amines: influence of ionic strength" *J. Pharm. Pharmac.*, 1972, vol. 24, pág. 841-847
5. *Wiley Registry 11ª Edición/NIST 2017 Mass Spectral Library*
6. S. C. De Smedt, *et al.* "Viscoelastic and transient network properties of hyaluronic acid as a function of the concentration", *Biorheology*, 1993. vol. 30(1), págs. 31-41).
- 35

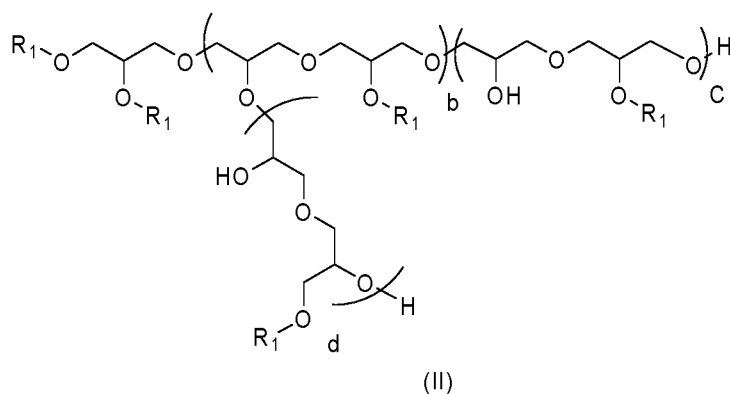
REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende:

A) uno o más ácidos hialurónicos reticulados seleccionados del grupo que consiste en uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I);

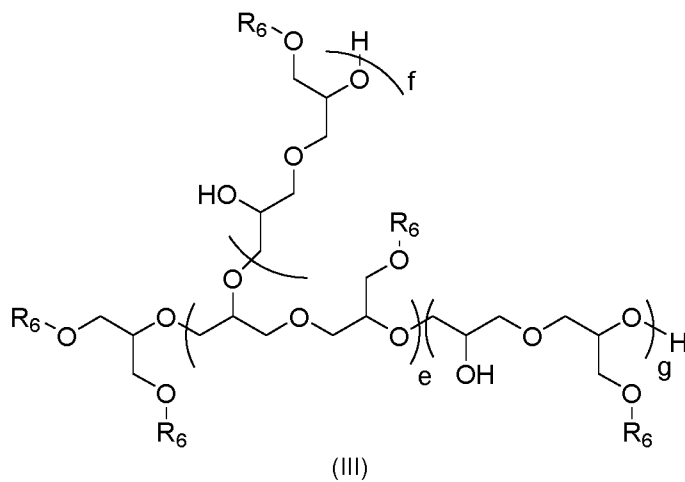


uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II);

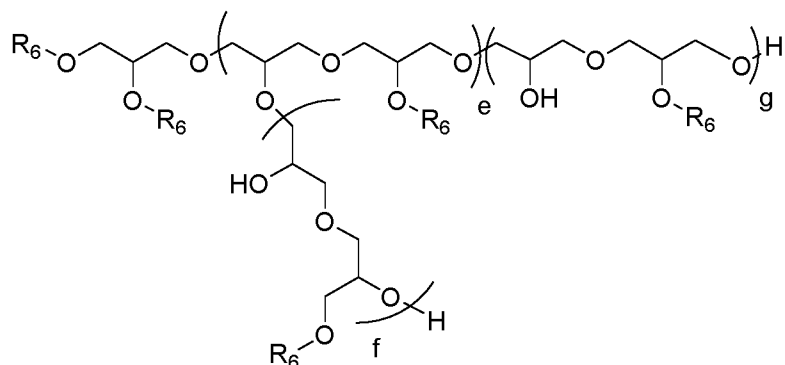


y una mezcla de uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y uno o más de los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II);

B) uno o más poligliceroles seleccionados del grupo que consiste en uno o más poligliceroles de fórmula (III);



uno o más poligliceroles de fórmula (IV);



5 (IV)

y una mezcla de uno o más poligliceroles de fórmula (III) y uno o más poligliceroles de fórmula (IV);

C) uno o más agentes anestésicos locales o una sal de los mismos; y

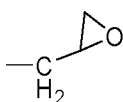
10 D) opcionalmente, uno o más excipientes o portadores aceptables;

donde:

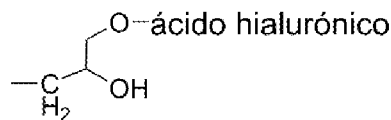
cada R₁ se selecciona independientemente del grupo que consiste en R₂, R₄ y R₅;

R₂

15

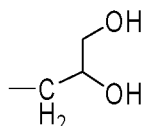


20 R₄ es



25

R₅ es



30

cada R₆ es R₅;

b es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1 a 70;

35 c es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

d es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

e es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1 a 50;

f es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 50;

g es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 50;

40 los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) o fórmula (II) tienen un porcentaje de reticulación (G.R.) de 0,030 a 0,900 % medido como se indica en la descripción;

los poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) tienen un peso molecular promedio en peso (M_w) de 240 a 3700 Da medido por cromatografía de exclusión por tamaños acoplada con detector UV-visible y detector de masas.

45 (SEC/UV/MS); y

la concentración de poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) o mezcla de los mismos en la composición es de 0,45 a 25 mg/ml;

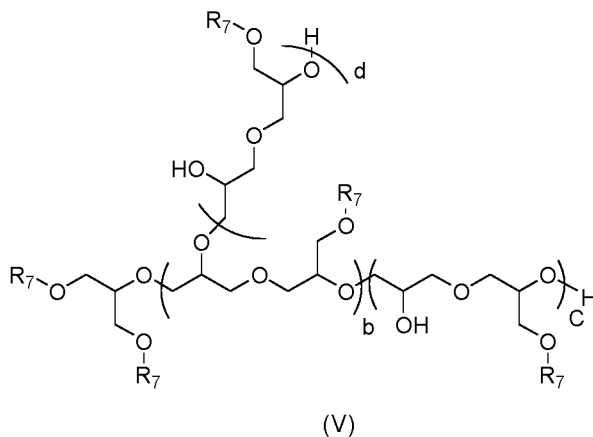
50 con la condición de que:

en los ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) o fórmula (II) al menos un R₁ es R₄;

donde:

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I), la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

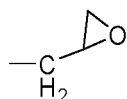
i) reticular un ácido hialurónico con un compuesto de fórmula (V)



donde:

cada R₇ es R₂;

R₂ es



b es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1 a 70;

c es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

d es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

(ii) poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (i) que comprende (A) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y (B) uno o más poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) con los uno o más agentes anestésicos (C);

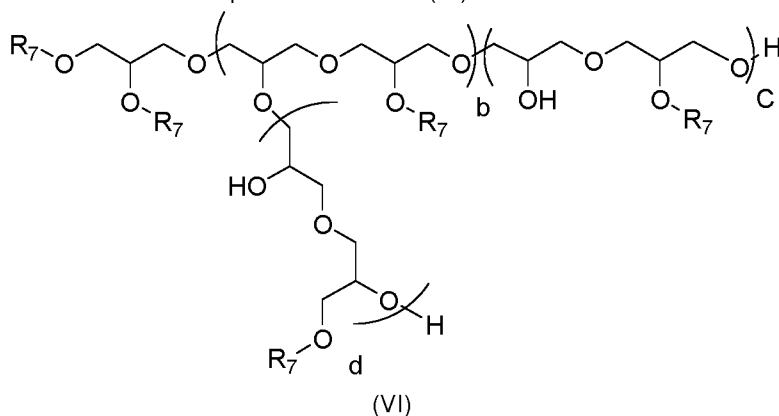
(iii) opcionalmente, poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (ii) con los uno o más excipientes o portadores (D); y

(iv) opcionalmente, esterilizar la mezcla obtenida en la etapa (iii);

donde el procedimiento comprende además una etapa de lavado adicional (vi) después de la etapa (i);

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (II), entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

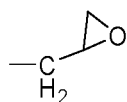
i') reticular un ácido hialurónico con un compuesto de fórmula (VI)



donde:

cada R₇ es R₂;

R₂ es



b es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1 a 70;

c es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

d es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

(ii') poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (i') que comprende (A) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (II) y (B) uno o más poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) con los uno o más agentes anestésicos (C);
 5 (iii') opcionalmente, poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (II') con los uno o más excipientes o portadores (D); y

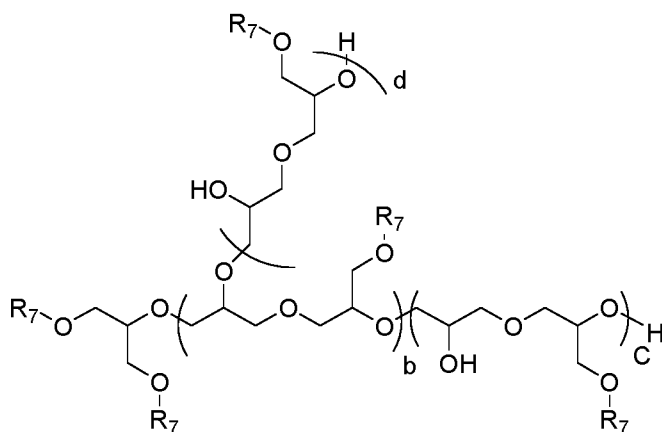
(iv') opcionalmente, esterilizar la mezcla obtenida en la etapa (iii');

donde el procedimiento comprende además una etapa de lavado adicional (vi') después de la etapa (i');

10 o, como alternativa,

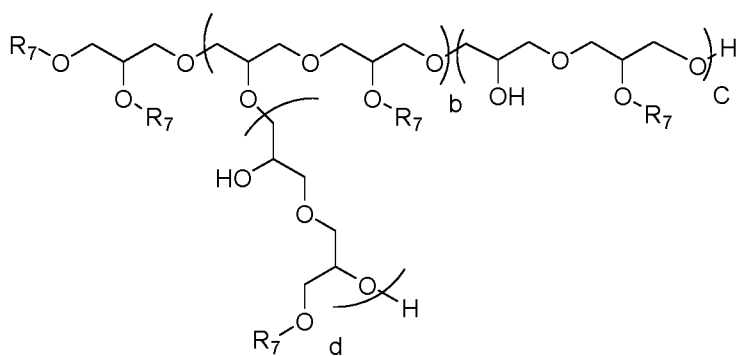
- cuando la composición comprende (a) una mezcla de un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) y de fórmula (II); entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

15 l') reticular un ácido hialurónico con una mezcla que comprende el compuesto de fórmula (V)



(V)

35 y de fórmula (VI)

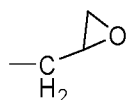


(VI)

donde:

cada R7 es R2;

R2 es



b es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1 a 70;

c es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

d es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 0 a 70;

(ii'') poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (i'') que comprende (A) uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I) y fórmula (II) y (B) uno o más poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) con los uno o más agentes anestésicos (C);

(iii'') opcionalmente, poner en contacto la mezcla obtenida en la etapa (ii'') con los uno o más excipientes o portadores (D); y

(iv'') opcionalmente, esterilizar la mezcla obtenida en la etapa (iii'').

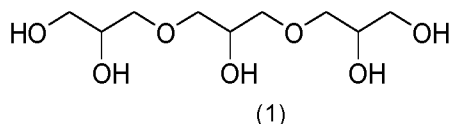
10 donde el procedimiento comprende además una etapa de lavado adicional (vi'') después de la etapa (i'');

en el que la etapa (vi), o como alternativa la etapa (vi'); o como alternativa la etapa (vi'') se realiza mediante la adición de dicha cantidad apropiada de una solución acuosa ácida para obtener un pH de 6,5-7,4 y una concentración de poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) o una mezcla de los mismos en la composición de 0,45 a 25 mg/ml.

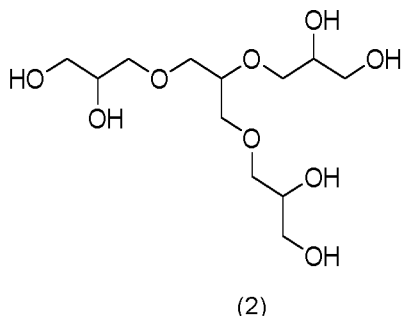
15 2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, donde el ácido hialurónico reticulado de fórmula (I), o de fórmula (II), o una mezcla de los mismos, se obtiene usando poliglicerol poliglicidil éter (PPE) como reticulante que tiene un peso molecular promedio en número de 204 a 15.000 Da medido mediante el método por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC) y un peso equivalente de epoxi de 100 a 7000 g/eq medido por valoración rápida asistida por
20 ultrasonificación con HCl.

3. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde los uno o más poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) se seleccionan del grupo que consiste en:

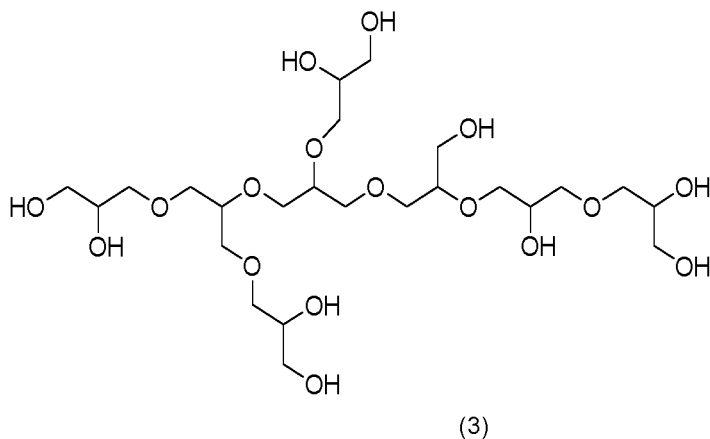
25 un compuesto de fórmula (1);



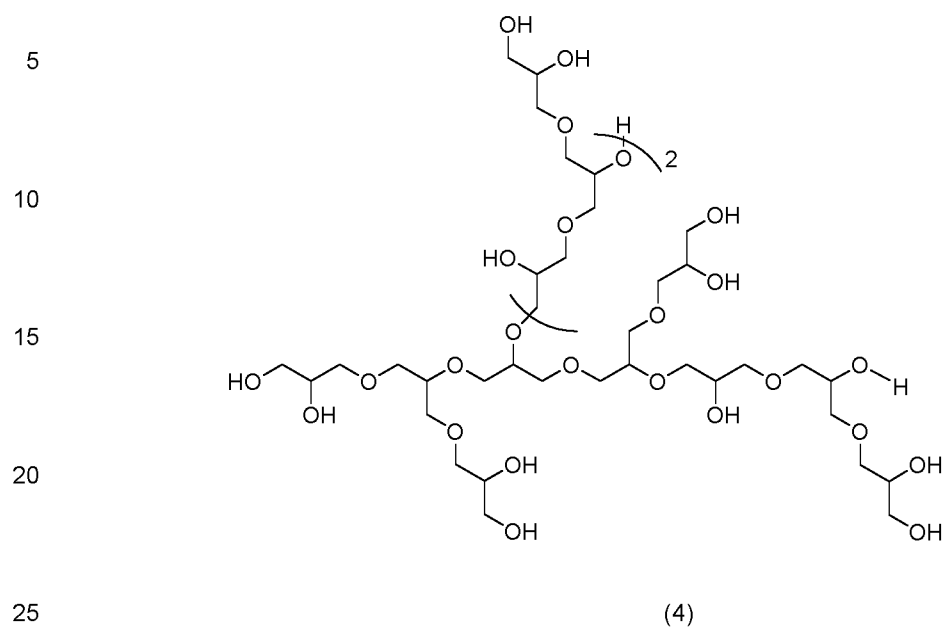
un compuesto de fórmula (2);



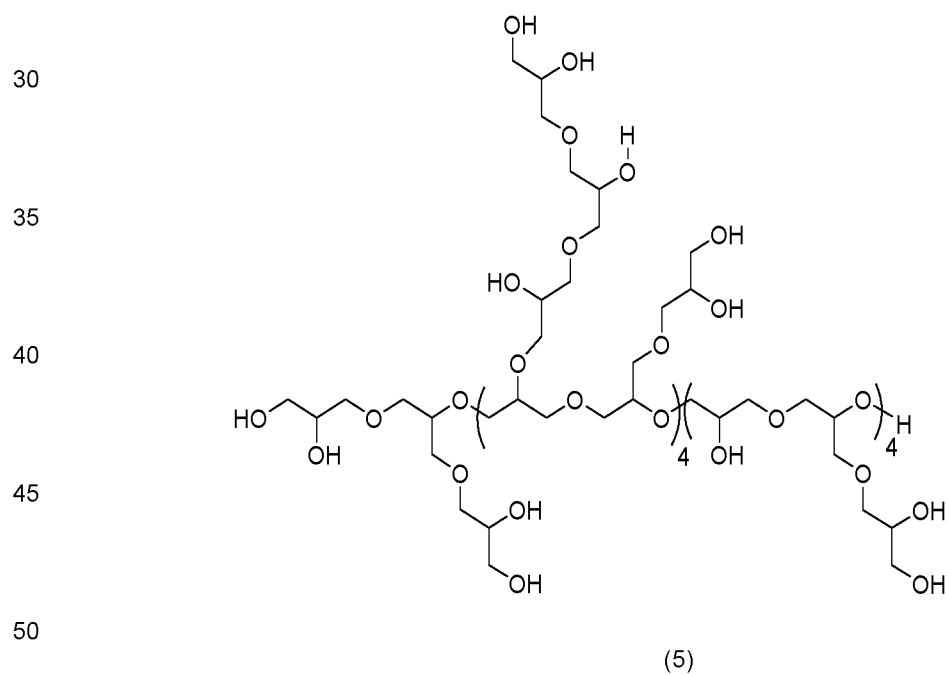
45 un compuesto de fórmula (3);



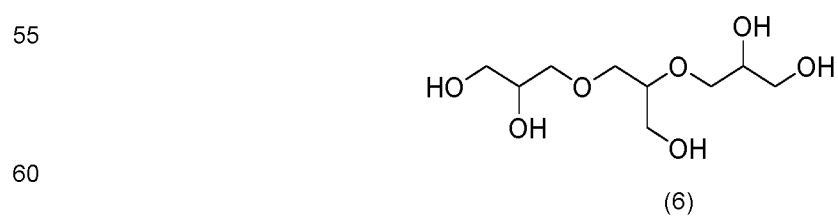
un compuesto de fórmula (4);



un compuesto de fórmula (5);



un compuesto de fórmula (6);



y una mezcla de los mismos.

4. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde la concentración del ácido hialurónico en el ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) o fórmula (II) es de 1 a 50 mg/ml.

5. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el peso molecular promedio del ácido hialurónico del ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) o fórmula (II) es de 100 a 3000 kDa medido mediante el método por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC).

6. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el agente anestésico local se selecciona del grupo que consiste en ambucaína, amolanona, amilocaína, articaína, benoxinato, benzocaína, betoxicaína, bifenamina, bupivacaína, butacaína, butambeno, butanilicaína, butetamina, butoxicaína, cloroprocaína, cocaetilo, cocaína, ciclometacaína, dibucaína, dimetisoquina, dimetocaína, diperodón, dicicloramina, ecgonidina, ecgonina, etidocaína, beta-eucaína, euprocina, fenalcomina, farmocaína, fomocaína, hexilcaína, hidroxitetraína, p-aminobenzoato de isobutilo, mesilato de leucinocaína, levoxadrol, lidocaína, mepivacaína, meprilcaína, metabutoxicaína, mirtecaína, naepaína, octacaína, ortocaína, oxetazaína, paretoxicaína, fenacaína, fenol, piperocaína, piridocaína, polidocanol, pramoxina, prilocaína, procaína, propanocaína, proparacaína, propipocaína, propoxicaína, pseudococaína, pirrocaína, ropivacaína, alcohol salicílico, tetraína, tolicaína, trimecaína, zolamina y una mezcla de los mismos.

7. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde:

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I), la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

i) reticular un ácido hialurónico con un compuesto de fórmula (V) que tiene:

un peso molecular promedio (M_w) de 204 a 15.000 Da medido mediante el método por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC); y

un peso equivalente de epoxi de 100 a 7000 g/eq medido por valoración rápida asistida por ultrasonificación con HCl;

o, como alternativa,

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (II), entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

i') reticular un ácido hialurónico con un compuesto de fórmula (VI) que tiene:

un peso molecular promedio (M_w) de 204 a 15.000 Da medido mediante el método por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC); y

un peso equivalente de epoxi de 100 a 7000 g/eq medido por valoración rápida asistida por ultrasonificación con HCl;

o, como alternativa,

- cuando la composición comprende (a) una mezcla de un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) y de fórmula (II); entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende:

ii') reticular un ácido hialurónico con una mezcla que comprende el compuesto de fórmula (V) y el compuesto de fórmula (VI) que tiene:

un peso molecular promedio (M_w) de 204 a 15.000 Da medido mediante el método por cromatografía de exclusión por tamaños (SEC); y

un peso equivalente de epoxi de 100 a 7000 g/eq medido por valoración rápida asistida por ultrasonificación con HCl.

8. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde:

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I), entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende una etapa adicional (v) después de la etapa (ii); o como alternativa después de la etapa (iii), o como alternativa después de la etapa (iv) que comprende la adición de un compuesto de fórmula (III), un compuesto de fórmula (IV) o una mezcla de los mismos;

o, como alternativa,

- cuando la composición comprende (a) un ácido hialurónico reticulado de fórmula (II), entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende una etapa adicional (v') después de la etapa (ii'); o como alternativa después de la etapa (iii'), o como alternativa después de la etapa (iv') que comprende la adición de un compuesto de fórmula (III), un compuesto de fórmula (IV) o una mezcla de los mismos;

o, como alternativa,

- cuando la composición comprende (a) una mezcla de un ácido hialurónico reticulado de fórmula (I) y de fórmula (II); entonces la composición es obtenible mediante un procedimiento que comprende una etapa adicional (v'') después de la etapa (ii''); o como alternativa después de la etapa (iii''), o como alternativa después de la etapa (iv'') que comprende la adición de un compuesto de fórmula (III), un compuesto de fórmula (IV) o una mezcla de los mismos.

9. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que está en forma de composición inyectable.

10. La composición como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que es una composición farmacéutica que comprende:
una cantidad terapéuticamente efectiva de los uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I), de fórmula (II) o una mezcla de los mismos;
- 5 una cantidad terapéuticamente efectiva de los uno o más poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) o una mezcla de los mismos;
una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más agentes anestésicos, y
opcionalmente, uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables; para su uso en terapia;
o, como alternativa,
- 10 el uso de una composición como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-9, que es una composición cosmética que comprende:
una cantidad cosméticamente efectiva de los uno o más ácidos hialurónicos reticulados de fórmula (I), de fórmula (II) o una mezcla de los mismos;
una cantidad cosméticamente efectiva de los uno o más poligliceroles de fórmula (III) o fórmula (IV) o una mezcla de
- 15 los mismos;
una cantidad cosméticamente efectiva de uno o más agentes anestésicos, y
opcionalmente, uno o más excipientes o portadores cosméticamente aceptables, como agente para el cuidado de la piel; particularmente como relleno dérmico.
- 20 11. Uso de una composición como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-10, como portador; particularmente como sistema de liberación de fármacos.