

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 824 232**

51 Int. Cl.:

A61K 8/73 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
A61K 8/67 (2006.01)
A61L 27/20 (2006.01)
A61L 27/50 (2006.01)
C08B 37/08 (2006.01)
C08J 3/075 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2012** **E 16205773 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2020** **EP 3175840**

54 Título: **Composiciones de relleno dérmico**

30 Prioridad:

08.12.2011 US 201161568618 P
01.06.2012 US 201213486754
23.08.2012 US 201213593313
13.09.2012 US 201213615193

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.05.2021

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

NJIKANG, GABRIEL N.;
YU, XIAOJIE;
LIU, FUTIAN y
MANESIS, NICHOLAS J.

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 824 232 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones de relleno dérmico

5 **Solicitudes relacionadas**

Antecedentes

10 La presente invención se refiere generalmente a composiciones de relleno dérmico, por ejemplo, pero sin limitarse a, composiciones de relleno dérmico que son eficaces para el tratamiento de líneas de expresión en la piel.

15 El envejecimiento de la piel es un fenómeno progresivo, que se produce a lo largo del tiempo y puede verse afectado por factores del estilo de vida, tales como el consumo de alcohol, el tabaco y la exposición al sol. El envejecimiento de la piel facial puede caracterizarse por atrofia, laxitud y engorde. La atrofia corresponde a una reducción masiva del grosor del tejido cutáneo. La laxitud de los tejidos subcutáneos conduce a un exceso de piel y ptosis y conduce a la aparición de pómulos y párpados caídos. El engorde se refiere a un aumento de peso en exceso de por la hinchazón de la parte inferior del rostro y el cuello. Estos cambios se asocian normalmente con sequedad, pérdida de elasticidad y textura áspera.

20 El ácido hialurónico (HA), también conocido como hialuronano, es un glicosaminoglicano no sulfatado que se distribuye ampliamente por todo el cuerpo humano en los tejidos conjuntivos, epiteliales y neurales. El ácido hialurónico es abundante en las diferentes capas de la piel, en las que tiene múltiples funciones tales como, por ejemplo, para garantizar una buena hidratación, para ayudar en la organización de la matriz extracelular, para actuar como material de relleno; y para participar en los mecanismos de reparación tisular. Sin embargo, con la edad, disminuye la cantidad de ácido hialurónico, colágeno, elastina y otros polímeros de la matriz presentes en la piel. Por ejemplo, exponerse de manera repetida a luz ultravioleta, por ejemplo, del sol, hace que las células dérmicas tanto disminuyan su producción de hialuronano como aumenten la velocidad de su degradación. Esta pérdida de materiales da como resultado diversos estados de la piel como, por ejemplo, arrugas, huecos, pérdida de humedad y otros estados no deseables que contribuyen a la aparición del envejecimiento. Los rellenos dérmicos inyectables se han usado con éxito en el tratamiento de la piel envejecida. Los rellenos pueden reemplazar los polímeros de matriz endógenos perdidos o mejorar/facilitar la función de los polímeros de matriz existentes para tratar estos estados de la piel.

35 En humanos, el tiempo de residencia del ácido hialurónico no modificado es de algunos días, ya que las cadenas poliméricas se degradan fácilmente por las enzimas y los radicales libres que se encuentran en el cuerpo. Los rellenos dérmicos disponibles comercialmente se preparan generalmente por reticulación de grupos hidroxilo de HA, un agente reticulante químico. Están disponibles geles de relleno dérmico comerciales que contienen ácido hialurónico sintetizado con divinilsulfona (DVS), diglicidil éter de 1,4-butanodiol (BDDE) o 1,2,7,8-diepoxioctano (DEO). El efecto de suavidad y aumento de tejido de los rellenos dérmicos puede controlarse cambiando la densidad de reticulación con diversos agentes reticulantes.

40 Para mejorar el tiempo de residencia, las cadenas lineales de ácido hialurónico se reticulan normalmente con un agente reticulante de molécula pequeña como BDDE. La reticulación se realiza a un pH muy alto (>12) y a temperaturas de aproximadamente 50°C. Se ha informado de que la constante de velocidad de degradación del HA aumenta aproximadamente 100 veces cuando se aumentan tanto la temperatura como el pH desde 40 hasta 60°C y de 7 a 11 respectivamente. Este inconveniente ha llevado a la búsqueda de nuevos agentes reticulantes y compuestos químicos de reticulación para el HA que implicarían condiciones más suaves.

45 En la presente invención, el HA reticulante se reticula con un agente de acoplamiento y el uso de pequeños agentes reticulantes de multiamina, que forman enlaces amida con los grupos funcionales carboxílicos de las cadenas de HA. En la presente invención, la reticulación puede realizarse a niveles de pH bajos, por ejemplo, a un pH de entre 4 y 7 y temperaturas de entre 20 y 37°C, condiciones en las que la degradación del HA es mínima.

50 Bioconjugate Chemistry, 2010, 21, 240-247: Joem Y., *et al.*, Effect of cross-linking reagents for hyaluronic acid hydrogel dermal fillers on tissue augmentation and regeneration estudia el uso de HMDA para preparar un relleno dérmico de HA reticulado para el aumento de tejido.

55 El efecto Tyndall es un acontecimiento adverso que se produce en algunos pacientes a los que se administran rellenos dérmicos a base de ácido hialurónico (HA). El efecto Tyndall se caracteriza por la aparición de una coloración azul en el sitio de la piel en el que se había inyectado un relleno dérmico, que representa el ácido hialurónico visible visto a través de la epidermis translúcida. Los informes clínicos sugieren que la técnica de administración de rellenos y las propiedades de la piel pueden influir en la manifestación de este acontecimiento adverso. Los rellenos con alta rigidez y elasticidad se usan con éxito para corregir áreas en el rostro como surcos nasogenianos, pómulos y barbilla sin ningún temor de coloración facial, ya que los materiales se inyectan en las regiones medias y profundas de la dermis. Sin embargo, cuando estos materiales de relleno se usan para corregir arrugas de líneas de expresión superficiales, por ejemplo, surco lagrimal, arrugas glabellares, arrugas periorbitarias, arrugas de sonrisa o frente, o se aplican por error demasiado superficialmente en las regiones superiores de la dermis, a menudo se observa una coloración

azulada de la piel. Este fenómeno, que se cree que es el resultado del efecto Tyndall, deja una coloración semipermanente de los sitios de aplicación y, a veces, desaparece sólo después de la administración de hialuronidasa para degradar el material de relleno. En consecuencia, el efecto Tyndall es más común en pacientes tratados por arrugas de líneas de expresión superficiales. La manifestación prolongada del efecto Tyndall, normalmente durante

5 varios meses mientras el gel permanece en la piel, es una causa de gran preocupación entre los pacientes.

Se han formulado específicamente geles de relleno dérmico a base de HA para tratar las arrugas de "líneas de expresión" encontradas alrededor del surco lagrimal, la frente, las arrugas periorbitarias, glabellares, etc. Muchos muestran el efecto Tyndall cuando se inyecta de manera demasiado superficial. Aunque estos geles se formulan para

10 tener unos módulos de elasticidad bajo reticulando ligeramente las cadenas lineales de HA con una pequeña cantidad de BDDE y reduciendo la concentración final de gel de HA, la mayoría de los geles para líneas de expresión disponibles comercialmente todavía muestran el efecto Tyndall cuando se inyectan de manera superficial, y desgraciadamente, la duración *in vivo* de estos geles es muy marginal.

15 Existe todavía la necesidad de mejores rellenos dérmicos para tratar y mejorar el aspecto de la piel envejecida.

Sumario

La presente invención describe composiciones de relleno dérmico y métodos de formulación para preparar rellenos dérmicos a base de HA mediante el uso de nuevos compuestos químicos de reticulación. Se ha encontrado que muchos de los geles de relleno de la invención descritos actualmente duran significativamente más *in vivo* que los geles disponibles comercialmente en la actualidad. En algunos aspectos de la invención, las composiciones pueden administrarse en la dermis superior sin producir ninguna coloración azulada de la piel, o al menos ninguna coloración azulada significativa o notable. En algunos aspectos de la invención, las composiciones de relleno dérmico son

25 ópticamente transparentes y pueden usarse para mejorar el aspecto de la piel, por ejemplo, añaden volumen, plenitud y reducen arrugas y líneas de expresión, sin provocar la coloración azul conocida como "tindalización", que a veces se asocia con los rellenos dérmicos ópticamente transparentes convencionales.

En la presente invención, se proporcionan composiciones de relleno dérmico terapéuticas de larga duración que comprenden un componente de ácido hialurónico reticulado con lisina y el ácido hialurónico reticulado (HA) está presente en el hidrogel a una concentración de 10 a 40 mg/ml.

30

En otro aspecto, tales composiciones son ópticamente transparentes de manera sustancial, y presentan una coloración azul reducida o no perceptible cuando se administran en una región dérmica de un paciente.

35 También se proporcionan métodos de elaboración de una composición de relleno dérmico inyectable. En una realización, el método comprende las etapas de reticular ácido hialurónico (HA) con un agente reticulante de multiamina con la ayuda de un agente de acoplamiento de carbodiimida.

40 El agente reticulante es éster metílico de lisina o lisina.

El HA se reticula junto con un agente de acoplamiento de carbodiimida, por ejemplo, un agente de acoplamiento soluble en agua, por ejemplo, una carbodiimida soluble en agua.

45 En otra realización, el agente de acoplamiento es clorhidrato de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida (EDC), y está presente a una concentración de entre aproximadamente 20 μm y 100 μm .

El agente de acoplamiento puede usarse junto con un agente de activación soluble en agua, por ejemplo, N-hidroxisuccinimida (NHS) o N-hidroxisulfosuccinimida (sulfoNHS), presente a una concentración de entre

50 aproximadamente 5 μm y aproximadamente 25 μm .

El polímero es ácido hialurónico. El ácido hialurónico incluye un componente reticulado y puede incluir además un componente no reticulado. El aditivo puede comprender una vitamina, por ejemplo, vitamina C, por ejemplo, una forma estabilizada de vitamina C o un derivado de vitamina C, por ejemplo, 2-glucósido de ácido L-ascórbico (AA2G), 3-aminopropilfosfato de ascorbilo (Vitagen) o ascorbilfosfato de sodio (AA2P).

55

En un aspecto de la invención, el aditivo es un derivado de vitamina que se conjuga covalentemente al polímero mediante un procedimiento de reacción adecuado, por ejemplo, eterificación, amidación o esterificación.

La composición puede ser ópticamente transparente de manera sustancial. Las composiciones tienen generalmente un valor de G' de entre aproximadamente 20 Pa y aproximadamente 150 Pa, por ejemplo, no más de aproximadamente 150 Pa y, por ejemplo, no menos de aproximadamente 20 Pa.

60

En otro aspecto de la invención, se proporcionan métodos de tratamiento de líneas de expresión en la piel de un paciente. En una realización, el método comprende las etapas de introducir, en la piel de un paciente, una composición que comprende un componente de ácido hialurónico reticulado con un agente reticulante de diamina o multiamina; y

65

un agente de acoplamiento de carbodiimida. La composición puede ser ópticamente transparente de manera sustancial, y presenta una coloración azul reducida o no perceptible cuando se administra en una región dérmica de un paciente.

En otro aspecto de la invención, se proporcionan métodos de mejora del aspecto estético de un rostro, comprendiendo los métodos generalmente las etapas de administrar, a una región dérmica de un paciente, una composición ópticamente transparente de manera sustancial de relleno dérmico que no presenta o presenta un efecto Tyndall insignificante. La composición puede elaborarse mediante las etapas de reticular ácido hialurónico (HA) con un agente reticulante de diamina o multiamina en presencia de un agente de acoplamiento de carbodiimida.

Aún en otro aspecto de la invención, se proporcionan métodos de reducción de la aparición de líneas de expresión en regiones finas de la piel de un paciente, en el que el método comprende generalmente administrar al paciente una composición de relleno dérmico, a una profundidad de no más de aproximadamente 1 mm, una composición de relleno dérmico a base de ácido hialurónico ópticamente transparente de manera sustancial que comprende un componente de ácido hialurónico reticulado con un agente reticulante de diamina o multiamina.

En algunas realizaciones, la composición se inyecta de manera superficial, es decir, a una profundidad de una profundidad de no más de aproximadamente 0,8 mm, no más de aproximadamente 0,6 mm, o no más de aproximadamente 0,4 mm.

Aún en otro aspecto de la invención, se proporciona una composición de relleno dérmico que comprende generalmente un componente de ácido hialurónico reticulado con un agente reticulante de diamina o multiamina en presencia de un agente de acoplamiento de carbodiimida. La composición puede tener una concentración de ácido hialurónico de entre aproximadamente 14 mg/ml y aproximadamente 30 mg/ml. El ácido hialurónico puede ser un ácido hialurónico de bajo peso molecular, por ejemplo, un ácido hialurónico que tiene un peso molecular medio de menos de aproximadamente 100 KDa, menos de 800 KDa, menos de aproximadamente 600 KDa, o menos de aproximadamente 400 KDa. Estas composiciones pueden ser especialmente útiles y eficaces en el tratamiento de pliegues y arrugas, incluyendo líneas de expresión o surcos superficiales en la piel, por ejemplo, incluso en piel muy fina, por ejemplo, piel que tiene un grosor de no más de aproximadamente 1 mm. En algunas realizaciones, las composiciones de la invención duran al menos 3 meses, al menos 6 meses o hasta un año después de introducirse en la piel.

Estos y otros aspectos y ventajas de la presente invención pueden entenderse y apreciarse más fácilmente con referencia a los siguientes dibujos y descripción detallada.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra imágenes de la piel de un mamífero al que se le ha inyectado una composición según un aspecto de la invención y dos rellenos dérmicos comerciales.

Descripción detallada

El ácido hialurónico (HA) es un glucosaminoglicano que se produce de manera natural usado para formular rellenos dérmicos que se usan principalmente para reducir las arrugas y dar volumen al rostro. En humanos, el tiempo de residencia del ácido hialurónico no modificado es de unos días, ya que las cadenas poliméricas se degradan fácilmente por las enzimas y los radicales libres que se encuentran en el cuerpo. Para mejorar el tiempo de residencia, las cadenas lineales de ácido hialurónico se reticulan habitualmente con un agente reticulante de molécula pequeña como el BDDE.

La presente divulgación se refiere, en parte a rellenos dérmicos que comprenden HA reticulado con lisina. En condiciones ideales, el EDC activa los grupos ácido carboxílico del HA, y luego los grupos ácido carboxílico activados reaccionan con lisina o éster metílico de lisina. En un aspecto, la reticulación se realiza a pH de entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7 y a temperaturas de entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 37°C. En estas condiciones, se ha descubierto que la degradación del HA es mínima.

Tal como se usa en el presente documento, el término "polímero de ácido hialurónico" es sinónimo de "polímero de HA", "polímero de ácido hialurónico" y "polímero de hialuronato" y se refiere a un polímero de glucosaminoglicano aniónico no sulfatado que comprende unidades de disacárido, que a su vez incluyen monómeros de ácido D-glucurónico y D-N-acetilglucosamina, unidos entre sí mediante enlaces glucosídicos β -1,4 y β -1,3 alternos y sus sales farmacéuticamente aceptables. Los polímeros de hialuronano pueden purificarse a partir de fuentes de origen animal y no animal. Los polímeros de hialuronano pueden variar en tamaño desde aproximadamente 5.000 Da hasta aproximadamente 20.000.000 Da. Cualquier polímero de hialuronano es útil en las composiciones divulgadas en el presente documento siempre que el hialuronano mejore un estado de la piel. Los ejemplos no limitativos de sales farmacéuticamente aceptables de hialuronano incluyen hialuronano de sodio, hialuronano de potasio, hialuronano de magnesio, hialuronano de calcio, y combinaciones de los mismos.

Tal como se usa en el presente documento, el término "reticulado" se refiere a los enlaces intermoleculares que unen

las moléculas de polímero individuales, o cadenas de monómeros, en una estructura más estable como un gel. Como tal, un polímero de glicosaminoglicano reticulado tiene al menos un enlace intermolecular que une al menos una molécula de polímero individual a otra. La reticulación de los polímeros de glicosaminoglicano da como resultado normalmente la formación de un hidrogel. Tales hidrogeles tienen alta viscosidad y requieren una fuerza considerable para extraerse a través de una aguja fina.

Los polímeros de glicosaminoglicano divulgados en el presente documento pueden reticularse mediante el uso de lisina, éster metílico de lisina, o combinaciones de los mismos.

Tal como se usa en el presente documento, el término “grado de reticulación” se refiere al porcentaje de unidades monoméricas de polímeros de glicosaminoglicano, tales como, por ejemplo, las unidades monoméricas de disacárido de hialuronano que se unen a un agente de reticulación. El grado de reticulación se expresa como la razón en peso en porcentaje del agente de reticulación con respecto a glicosaminoglicano. El grado de reticulación en determinada realización ventajosa de la invención es de entre aproximadamente el 3% y aproximadamente el 12%, por ejemplo, entre aproximadamente el 5% y aproximadamente el 10%. El agente reticulante está presente en la composición a una concentración de entre aproximadamente 1 μm y aproximadamente 100 μm , por ejemplo, entre aproximadamente 10 μm y aproximadamente 50 μm .

La composición de hidrogel comprende ácido hialurónico reticulado, en la que el polímero de glicosaminoglicano reticulado está presente en la composición a una concentración de entre aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 40 mg/ml, por ejemplo, entre aproximadamente 18 mg/ml y aproximadamente 30 mg/ml. En algunas realizaciones, las composiciones tienen una concentración total de ácido hialurónico de aproximadamente 22 mg/ml, aproximadamente 23 mg/ml, aproximadamente 24 mg/ml o aproximadamente 25 mg/ml.

Los aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel que comprende polímeros de hialuronano de bajo peso molecular, polímeros de hialuronano de alto peso molecular, o polímeros de hialuronano tanto de bajo como de alto peso molecular.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Para los propósitos de la presente memoria descriptiva, a menos que se indique lo contrario, “%” en una formulación se define como porcentaje en peso (es decir, p/p).

Los aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que puede comprender un agente de acoplamiento. El agente de acoplamiento puede ser un agente de acoplamiento soluble en agua, por ejemplo, una carbodiimida soluble en agua. En una realización, el agente de acoplamiento es clorhidrato de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida (EDC). La concentración del agente de acoplamiento puede ser de entre aproximadamente 10 μm y aproximadamente 50 μm .

Los aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, que pueda usarse un agente de acoplamiento junto con un agente de activación soluble en agua. El agente de activación puede ser N-hidroxisuccinimida (NHS) o N-hidroxisulfosuccinimida (sulfoNHS). El agente de activación está presente a una concentración de entre aproximadamente 5 μm y aproximadamente 25 μm .

Los aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que puede comprender opcionalmente un agente anestésico. Un agente anestésico es preferiblemente un agente anestésico local, es decir, un agente anestésico que provoca una anestesia local reversible y una pérdida de nocicepción, tal como, por ejemplo, anestésicos locales de aminoamida y anestésicos locales de aminoéster. La cantidad de un agente anestésico incluido en una composición divulgada en el presente documento es una cantidad eficaz para mitigar el dolor experimentado por un individuo tras la administración de la composición. Como tal, la cantidad de un agente anestésico incluido en una composición divulgada en la presente memoria descriptiva es de entre aproximadamente el 0,1% y aproximadamente el 5% en peso de la composición total. Los ejemplos no limitativos de agentes anestésicos incluyen lidocaína, ambucaína, amolanona, amilocaína, benoxinato, benzocaína, betoxicaína, bifenamina, bupivacaína, butacaína, butamben, butanilocaína, butetamina, butoxicaína, carticaína, cloroprocaina, cocaetilo, cocaína, ciclometicaína, dibucaína, dimetisoquina, dimetocaína, diperodón, diclonina, ecgonidina, ecgonina, cloruro de etilo, etidocaína, beta-eucaína, euprocina, fenalcomina, formocaína, hexilocaína, hidroxitetraína, p-aminobenzoato de isobutilo, mesilato de leucinocaína, levoadrol, lidocaína, mepivacaína, mepirilocaína, metabutoxicaína, cloruro de metilo, mirtecaína, naepaína, octacaína, ortocaína, oxetazaína, paretoxicaína, fenacaína, fenol, piperocaína, piridocaína, polidocanol, pramoxina, prilocaína, procaína, propanocaína, proparacaína, propipocaína, propoxicaína, pseudococaína, pirrocaína, ropivacaína, alcohol salicílico, tetraína, tolicaína, trimecaína, zolamina, combinaciones de los mismos, y sales de los mismos. Los ejemplos no limitativos de anestésicos locales de aminoéster incluyen procaína, cloroprocaina, cocaína, ciclometicaína, cimetocaína (larocaína), propoxicaína, procaína (novocaína), proparacaína, tetraína (ametocaína). Los ejemplos no limitativos de anestésicos locales de aminoamida incluyen articaína, bupivacaína, cincocaína (dibucaína), etidocaína, levobupivacaína, lidocaína (lignocaína), mepivacaína, piperocaína, prilocaína, ropivacaína y trimecaína. Una composición divulgada en el presente documento puede comprender un único agente anestésico o una pluralidad de agentes anestésicos. Un ejemplo no limitativo de un anestésico local en combinación es lidocaína/prilocaína (EMLA).

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

En otros aspectos de esta realización, una composición divulgada en el presente documento comprende un agente anestésico en una cantidad de, por ejemplo, aproximadamente el 0,1%, aproximadamente el 0,2%, aproximadamente

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

En un aspecto de la presente invención, se proporciona un relleno dérmico inyectable que comprende un polímero de ácido hialurónico reticulado con lisina y un aditivo o agente beneficioso combinado con el polímero.

Los aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que presenta un módulo de elasticidad o módulo de almacenamiento. Las composiciones tal como se divulgan en el presente documento son viscoelásticas ya que la composición tiene un componente elástico (similar a un sólido tal como, por ejemplo, polímeros de glicosaminoglicano reticulados) y un componente viscoso (similar a un líquido tal como, por ejemplo, polímeros de glicosaminoglicano no reticulados o una fase portadora) cuando se aplica fuerza (tensión, deformación).

Módulo de elasticidad, se refiere a la capacidad de un material de hidrogel para resistir la deformación, o, por el contrario, la tendencia de un objeto a no deformarse de manera permanente cuando se le aplica una fuerza. El módulo de elasticidad caracteriza la firmeza de una composición y también se conoce como módulo de almacenamiento ya que describe el almacenamiento de energía a partir del movimiento de la composición. El módulo de elasticidad describe la interacción entre elasticidad y fuerza ($G' = \text{tensión/deformación}$) y, como tal, proporciona una medición cuantitativa de la dureza o blandura de la composición. El módulo de elasticidad de un objeto se define como la pendiente de su curva de tensión-deformación en la región de deformación elástica: $\lambda = \text{tensión/deformación}$, en la que λ es el módulo de elasticidad en pascales; la tensión es la fuerza que provoca la deformación dividida entre el área en la que se aplica la fuerza; y la deformación es la razón del cambio provocado por la tensión con respecto al estado original del objeto. Sin embargo, dependiendo de la velocidad a la que se aplique la fuerza, una composición más rígida tendrá una mayor módulo de elasticidad y necesitará una fuerza mayor para deformar el material una distancia dada, tal como, por ejemplo, una inyección. Especificar cómo se van a medir las tensiones, incluidas las direcciones, permite definir muchos tipos de módulos de elasticidad. Los tres módulos de elasticidad primarios son el módulo de tracción, el módulo de cizalladura y el módulo volumétrico.

En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel presenta un módulo de elasticidad de, por ejemplo, al menos de aproximadamente 20 Pa a aproximadamente 3000 Pa. Por ejemplo, la composición presenta un módulo de elasticidad de entre al menos aproximadamente 50 Pa y aproximadamente 2500 Pa, al menos aproximadamente 100 Pa y aproximadamente 2000 Pa, al menos aproximadamente 500 Pa y aproximadamente 1000 Pa. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel presenta un módulo de elasticidad de, por ejemplo, al menos aproximadamente 20 Pa, al menos aproximadamente 25 Pa, al menos aproximadamente 50 Pa, al menos aproximadamente 75 Pa, al menos aproximadamente 100 Pa, al menos aproximadamente 125 Pa, al menos aproximadamente 150 Pa, al menos aproximadamente 175 Pa, al menos aproximadamente 200 Pa, al menos aproximadamente 250 Pa, al menos aproximadamente 300 Pa, al menos aproximadamente 350 Pa, al menos aproximadamente 400 Pa, al menos aproximadamente 450 Pa, al menos aproximadamente 500 Pa, al menos aproximadamente 550 Pa, al menos aproximadamente 600 Pa, al menos aproximadamente 650 Pa, al menos aproximadamente 700 Pa, al menos aproximadamente 750 Pa, al menos aproximadamente 800 Pa, al menos aproximadamente 850 Pa, al menos aproximadamente 900 Pa, al menos aproximadamente 950 Pa, al menos aproximadamente 1.000 Pa, al menos aproximadamente 1.200 Pa, al menos aproximadamente 1.300 Pa, al menos aproximadamente 1.400 Pa, al menos aproximadamente 1.500 Pa, al menos aproximadamente 1.600 Pa, al menos aproximadamente 1.700 Pa, al menos aproximadamente 1800 Pa, al menos aproximadamente 1900 Pa, al menos aproximadamente 2.000 Pa, al menos aproximadamente 2.100 Pa, al menos aproximadamente 2.200 Pa, al menos aproximadamente 2.300 Pa, al menos aproximadamente 2.400 Pa, o al menos aproximadamente 2.500 Pa. Aún en

otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel presenta un módulo de elasticidad de, por ejemplo, al menos de aproximadamente 20 Pa a como máximo aproximadamente 3000 Pa.

Los aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que tiene transparencia y/o translucidez. La transparencia óptica es la propiedad óptica de que permite que la luz visible pase a través de un material, mientras que la translucidez (también denominada translucencia o translucidez) sólo permite que la luz pase a través del material de manera difusa. La propiedad opuesta es la opacidad. Los materiales transparentes son claros, mientras que a través de los translúcidos no puede verse con claridad. Los hidrogeles divulgados en el presente documento pueden ser ópticamente transparentes o al menos translúcidos.

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

Una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede procesarse adicionalmente pulverizando el hidrogel para dar partículas y mezclarse opcionalmente con una fase portadora, por ejemplo, agua o una solución salina para formar una sustancia inyectable o tópica como una disolución, aceite, loción, gel, pomada, crema, suspensión, bálsamo o pasta. Como tal, las composiciones de hidrogel divulgadas pueden ser composiciones monofásicas o multifásicas. Un hidrogel puede molerse a un tamaño de partícula de desde aproximadamente 10 μm hasta aproximadamente 1000 μm de diámetro, tal como de aproximadamente 15 μm a aproximadamente 30 μm , de aproximadamente 50 μm a aproximadamente 75 μm , de aproximadamente 100 μm a aproximadamente 150 μm , de aproximadamente 200 μm a aproximadamente 300 μm , de aproximadamente 450 μm a aproximadamente 550 μm , de aproximadamente 600 μm a aproximadamente 700 μm , de aproximadamente 750 μm a aproximadamente 850 μm , o de aproximadamente 900 μm a aproximadamente 1.000 μm .

Los aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición divulgada en el presente documento que es inyectable. Tal como se usa en el presente documento, el término "inyectable" se refiere a un material que tiene las propiedades necesarias para administrar la composición en una región de la piel de un individuo mediante el uso de un dispositivo de inyección con una aguja fina. Tal como se usa en el presente documento, el término "aguja fina" se refiere a una aguja que es de calibre 27 o más pequeña. La capacidad de inyección de una composición divulgada en el presente documento puede lograrse dimensionando las partículas de hidrogel tal como se comentó anteriormente.

En un aspecto de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento es inyectable a través de una aguja fina. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento es inyectable a través de una aguja de, por ejemplo, aproximadamente calibre 27, aproximadamente calibre 30, o aproximadamente calibre 32. Aún en otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento es inyectable a través de una aguja de, por ejemplo, calibre 22 o más pequeña, calibre 27 o más pequeña, calibre 30 o más pequeña, o calibre 32 o más pequeña. Todavía en otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento es inyectable a través de una aguja de, por ejemplo, de aproximadamente calibre 22 a aproximadamente calibre 35, de calibre 22 a aproximadamente calibre 34, de calibre 22 a aproximadamente calibre 33, de calibre 22 a aproximadamente calibre 32, de aproximadamente calibre 22 a aproximadamente calibre 27, o de aproximadamente calibre 27 a aproximadamente calibre 32.

En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede inyectarse con una fuerza de extrusión de aproximadamente 150 N, aproximadamente 100 N, aproximadamente 80 N, aproximadamente 60 N, aproximadamente 55 N, aproximadamente 50 N, aproximadamente 45 N, aproximadamente 40 N, aproximadamente 35 N, aproximadamente 30 N, aproximadamente 25 N, aproximadamente 20 N, o aproximadamente 15 N a velocidades de 100 mm/min. En otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede inyectarse a través de una aguja de calibre 27 con una fuerza de extrusión de aproximadamente 150 N o menos, aproximadamente 100 N o menos, aproximadamente 80 N o menos, aproximadamente 60 N o menos, aproximadamente 55 N o menos, aproximadamente 50 N o menos, aproximadamente 45 N o menos, aproximadamente 40 N o menos, aproximadamente 35 N o menos, aproximadamente 30 N o menos, aproximadamente 25 N o menos, aproximadamente 20 N o menos, aproximadamente 15 N o menos, aproximadamente 10 N o menos, o aproximadamente 5 N o menos. Aún en otros

aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede inyectarse a través de una aguja de calibre 30 con una fuerza de extrusión de aproximadamente 150 N o menos, aproximadamente 100 N o menos, aproximadamente 80 N o menos, aproximadamente 60 N o menos, aproximadamente 55 N o menos, aproximadamente 50 N o menos, aproximadamente 45 N o menos, aproximadamente 40 N o menos, aproximadamente 35 N o menos, aproximadamente 30 N o menos, aproximadamente 25 N o menos, aproximadamente 20 N o menos, aproximadamente 15 N o menos, aproximadamente 10 N o menos, o aproximadamente 5 N o menos. Todavía en otros aspectos de esta realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede inyectarse a través de una aguja de calibre 32 con una fuerza de extrusión de aproximadamente 150 N o menos, aproximadamente 100 N o menos, aproximadamente 80 N o menos, aproximadamente 60 N o menos, aproximadamente 55 N o menos, aproximadamente 50 N o menos, aproximadamente 45 N o menos, aproximadamente 40 N o menos, aproximadamente 35 N o menos, aproximadamente 30 N o menos, aproximadamente 25 N o menos, aproximadamente 20 N o menos, aproximadamente 15 N o menos, aproximadamente 10 N o menos, o aproximadamente 5 N o menos.

Los aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que presenta cohesividad. La cohesividad, también denominada cohesión, atracción cohesiva, fuerza cohesiva o fuerza de compresión es una propiedad física de un material, provocada por la atracción intermolecular entre moléculas similares dentro del material que actúa para unir las moléculas. La cohesividad se expresa en términos de gramos-fuerza (gmf). La cohesión está afectada, entre otros factores, por la razón de pesos moleculares del polímero de glicosaminoglicano libre inicial, el grado de reticulación de polímeros de glicosaminoglicano, la cantidad de polímeros de glicosaminoglicano libres residuales tras la reticulación, y el pH de la composición de hidrogel. Una composición debe ser suficientemente cohesiva para permanecer ubicada en el sitio de administración. De manera adicional, en determinadas aplicaciones, es importante una cohesión suficiente para que la composición retenga su forma, y por tanto su funcionalidad, en el caso de ciclos de carga mecánica. Como tal, en una realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento presenta cohesividad, a la par con el agua. Aún en otra realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento presenta suficiente cohesividad para permanecer ubicada en el sitio de administración. Todavía en otra realización, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento presenta suficiente cohesividad para retener su forma. En una realización adicional, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento presenta suficiente cohesividad para retener su forma y funcionalidad.

Los aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que presenta estabilidad sustancial. Tal como se usa en el presente documento, el término “estabilidad” o “estable” cuando se refiere a una composición de hidrogel divulgada en el presente documento se refiere a una composición que no tiende a degradarse, descomponerse o romperse en ningún grado sustancial o significativo mientras se almacena antes de la administración a un individuo. Tal como se usa en el presente documento, el término “estabilidad térmica sustancial”, “térmicamente estable de manera sustancial”, “estable en autoclave” o “estable en esterilización con vapor” se refiere a una composición de hidrogel divulgada en el presente documento que es sustancialmente estable cuando se somete a un tratamiento térmico tal como se divulga en el presente documento.

La estabilidad de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede determinarse sometiendo una composición de hidrogel a un tratamiento térmico, tal como, por ejemplo, esterilización con vapor a presión normal o bajo presión (por ejemplo, autoclave). El tratamiento térmico puede llevarse a cabo a una temperatura de al menos aproximadamente 100°C durante entre aproximadamente un minuto y aproximadamente 10 minutos. La estabilidad sustancial de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede evaluarse 1) determinando el cambio en la fuerza de extrusión (ΔF) de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento después de la esterilización, donde el cambio en la fuerza de extrusión de menos de 2 N es indicativo de una composición de hidrogel sustancialmente estable tal como se mide mediante (la fuerza de extrusión de una composición de hidrogel con los aditivos especificados) menos (la fuerza de extrusión de una composición de hidrogel sin los aditivos añadidos); y/o 2) determinando el cambio en las propiedades reológicas de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento después de la esterilización, donde el cambio en $\tan \delta$ 1 Hz de menos de 0,1 es indicativo de una composición de hidrogel sustancialmente estable tal como se mide mediante ($\tan \delta$ 1 Hz de formulación de gel con aditivos) menos ($\tan \delta$ 1 Hz de formulación de gel sin aditivos). Como tal, una composición de hidrogel sustancialmente estable divulgada en el presente documento retiene una o más de las siguientes características después de la esterilización: homogeneidad, fuerza de extrusión, cohesión, concentración de hialuronano, concentración de agente(s), osmolaridad, pH, u otras características reológicas deseadas por el hidrogel antes del tratamiento térmico. En una realización, la composición es sustancialmente estable después de esterilizarse con vapor húmedo a temperaturas de entre aproximadamente 121°C y aproximadamente 124°C o mayor, durante de aproximadamente 3 min a aproximadamente 15 min o más.

En una realización, una composición de hidrogel que comprende un polímero de glicosaminoglicano se procesa mediante el uso de un tratamiento térmico que mantiene las propiedades deseadas del hidrogel divulgadas en el presente documento. En aspectos de esta realización, una composición de hidrogel que comprende un polímero de glicosaminoglicano y el al menos un agente divulgado en el presente documento se procesa mediante el uso de un tratamiento térmico de, por ejemplo, aproximadamente 100°C, aproximadamente 105°C, aproximadamente 110°C,

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

La estabilidad a largo plazo de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede determinarse sometiendo una composición de hidrogel a un tratamiento térmico, tal como, por ejemplo, almacenamiento en un entorno de aproximadamente 45°C durante aproximadamente 60 días. La estabilidad a largo plazo de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede evaluarse 1) sometiendo a ensayo la claridad y el color de una composición de hidrogel después del tratamiento térmico de 45°C, con una composición de hidrogel transparente y no coloreada que es indicativa de una composición de hidrogel sustancialmente estable; 2) determinando el cambio en la fuerza de extrusión (ΔF) de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento después el tratamiento térmico de 45°C, donde el cambio en la fuerza de extrusión de menos de 2 N es indicativo de una composición de hidrogel sustancialmente estable tal como se mide mediante (la fuerza de extrusión de una composición de hidrogel con los aditivos especificados antes del tratamiento térmico de 45°C) menos (la fuerza de extrusión de una composición de hidrogel con los aditivos especificados después del tratamiento térmico de 45°C); y/o 3) determinando el cambio en las propiedades reológicas de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento después de la esterilización, donde el cambio en $\tan \delta$ 1 Hz de menos de 0,1 es indicativo de una composición de hidrogel sustancialmente estable tal como se mide mediante ($\tan \delta$ 1 Hz de la formulación de gel con los aditivos especificados antes del tratamiento térmico de 45°C) menos ($\tan \delta$ 1 Hz de la formulación de gel con los aditivos especificados después del tratamiento térmico de 45°C). Como tal, la estabilidad a largo plazo de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento se evalúa mediante la retención de una o más de las siguientes características después del tratamiento térmico de 45°C: claridad (transparencia y translucidez), homogeneidad y cohesión.

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

Las presentes composiciones pueden incluir opcionalmente, sin limitación, otros componentes farmacéuticamente aceptables, incluyendo, sin limitación, tampones, conservantes, reguladores de la tonicidad, sales, antioxidantes, agentes de ajuste de la osmolalidad, agentes emulsionantes, agentes humectantes, y similares.

Un tampón farmacéuticamente aceptable es un tampón que puede usarse para preparar una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, siempre que la preparación resultante sea farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos no limitativos de tampones farmacéuticamente aceptables incluyen tampones acetato, tampones borato, tampones citrato, soluciones salinas tamponadas neutras, tampones fosfato y soluciones salinas tamponadas con fosfato. Cualquier concentración de un tampón farmacéuticamente aceptable puede ser útil en la formulación de una composición farmacéutica divulgada en el presente documento, con la condición de que una cantidad

terapéuticamente eficaz del principio activo se recupera mediante el uso de esta concentración eficaz de tampón. Los ejemplos no limitativos de concentraciones de tampones fisiológicamente aceptables se producen dentro del intervalo de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 900 mM. El pH de tampones farmacéuticamente aceptables puede ajustarse, siempre que la preparación resultante sea farmacéuticamente aceptable. Se entiende que pueden usarse ácidos o bases para ajustar el pH de una composición farmacéutica según sea necesario. Cualquier nivel de pH tamponado puede ser útil en la formulación de una composición farmacéutica, con la condición de que se recupere una cantidad terapéuticamente eficaz del principio activo del polímero de la matriz mediante el uso de este nivel de pH eficaz. Los ejemplos no limitativos de pH fisiológicamente aceptable se producen dentro del intervalo de aproximadamente pH 5,0 a aproximadamente pH 8,5. Por ejemplo, el pH de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede ser de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 8,0, o de aproximadamente 6,5 a aproximadamente 7,5, de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,4, o de aproximadamente 7,1 a aproximadamente 7,3.

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

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

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

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

La composición de hidrogel y los métodos divulgados en el presente documento son útiles en el tratamiento de un estado de los tejidos blandos. Un estado de los tejidos blandos incluye, sin limitación, una imperfección, defecto, enfermedad y/o trastorno de tejido blando. Los ejemplos no limitativos de un estado de los tejidos blandos incluyen imperfección, defecto, enfermedad y/o trastorno de la mama, tal como, por ejemplo, un aumento de mamas, una reconstrucción de mamas, mastopexia, micromastia, hipoplasia torácica, síndrome de Poland, defectos debidos a complicaciones del implante como contracción y/o rotura capsular; una imperfección, un defecto, una enfermedad o

un trastorno facial, tal como, por ejemplo, un aumento facial, una reconstrucción facial, una mesoterapia, síndrome de Parry-Romberg, lupus eritematoso profundo, hendiduras dérmicas, cicatrices, pómulos hundidos, labios finos, imperfecciones o defectos nasales, imperfecciones o defectos retroorbitarios, un pliegue, línea y/o arruga facial como una arruga glabellar, una arruga nasolabial, una arruga peribucal y/o una línea de marioneta, y/u otras deformidades o imperfecciones del contorno del rostro; una imperfección, un defecto, una enfermedad o un trastorno del cuello; una imperfección, un defecto, una enfermedad y/o un trastorno de la piel; otras imperfecciones, defectos, enfermedades y/o trastornos de los tejidos blandos, tales como, por ejemplo, un aumento o reconstrucción de la parte superior del brazo, el antebrazo, la mano, el hombro, la espalda, el torso incluyendo el abdomen, las nalgas, la parte superior de la pierna, la parte inferior de la pierna incluyendo las pantorrillas, el pie incluyendo el panículo adiposo plantar, los ojos, los genitales u otra parte, región o zona del cuerpo, o una enfermedad o trastorno que afecte a estas partes, regiones o zonas del cuerpo; incontinencia urinaria, incontinencia fecal, otras formas de incontinencia; y enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE). Tal como se usa en el presente documento, el término "mesoterapia" se refiere a una técnica de tratamiento cosmético no quirúrgico de la piel que implica la inyección intraepidérmica, intradérmica y/o subcutánea de un agente administrado como pequeñas gotitas múltiples en la epidermis, unión dermoepidérmica y/o la dermis.

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

La eficacia de las composiciones y los métodos en el tratamiento de un tejido blando facial puede ponerse de manifiesto mediante una o más de las siguientes medidas clínicas y/o cosméticas: aumento de tamaño, forma y/o contorno de la característica facial como aumento de tamaño, forma y/o contorno de la región de los labios, los pómulos o los ojos; tamaño, forma y/o contorno alterados de rasgos faciales como tamaño, forma y/o contorno alterados de la forma de la región de los labios, los pómulos o los ojos; reducción o eliminación de una arruga, pliegue o línea de la piel; resistencia a una arruga, pliegue o línea en la piel; rehidratación de la piel; aumento de la elasticidad de la piel; reducción o eliminación de la rugosidad de la piel; tersura de la piel aumentada y/o mejorada; reducción o eliminación de estrías o marcas; tono, lustre, brillo y/o luminosidad de la piel aumentados y/o mejorados; color de la piel aumentado y/o mejorado, reducción o eliminación de la palidez de la piel; injerto sostenido de la composición; disminución de efectos secundarios; satisfacción y/o calidad de vida del paciente mejoradas.

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

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

La duración del tratamiento se determinará normalmente basándose en el efecto cosmético y/o clínico deseado por el individuo y/o el médico y la parte o región del cuerpo que está tratándose. En aspectos de esta realización, la administración de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede tratar un estado de los tejidos blandos durante, por ejemplo, aproximadamente 6 meses, aproximadamente 7 meses, aproximadamente 8 meses, aproximadamente 9 meses, aproximadamente 10 meses, aproximadamente 11 meses, aproximadamente 12 meses, aproximadamente 13 meses, aproximadamente 14 meses, aproximadamente 15 meses, aproximadamente 18

meses, o aproximadamente 24 meses. En otros aspectos de esta realización, la administración de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede tratar un estado de los tejidos blandos durante, por ejemplo, al menos 6 meses, al menos 7 meses, al menos 8 meses, al menos 9 meses, al menos 10 meses, al menos 11 meses, al menos 12 meses, al menos 13 meses, al menos 14 meses, al menos 15 meses, al menos 18 meses, o al menos 24 meses. Aún en aspectos de esta realización, la administración de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede tratar un estado de los tejidos blandos durante, por ejemplo, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 12 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 15 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 21 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 12 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 15 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 9 meses a aproximadamente 21 meses, de aproximadamente 6 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 15 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 21 meses, de aproximadamente 12 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 15 meses a aproximadamente 18 meses, de aproximadamente 15 meses a aproximadamente 21 meses, de aproximadamente 15 meses a aproximadamente 24 meses, de aproximadamente 18 meses a aproximadamente 21 meses, de aproximadamente 18 meses a aproximadamente 24 meses, o de aproximadamente 21 meses a aproximadamente 24 meses.

Los aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, la administración de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento. Tal como se usa en el presente documento, el término “administrar” significa cualquier mecanismo de administración que proporciona una composición divulgada en el presente documento a un individuo que potencialmente dé como resultado un resultado clínica, terapéutica o experimentalmente beneficioso. El mecanismo de administración real usado para administrar una composición a un individuo puede determinarse por un experto habitual en la técnica teniendo en cuenta factores, incluyendo, sin limitación, el tipo de estado de la piel, la ubicación del estado de la piel, la causa del estado de la piel, la gravedad del estado de la piel, el grado de alivio deseado, la duración del alivio deseado, la composición particular usada, la tasa de excreción de la composición particular usada, la farmacodinámica de la composición particular usada, la naturaleza de los otros compuestos incluidos en la composición particular usada, la vía particular de administración, las características, los antecedentes y factores de riesgo particulares del individuo, tal como, por ejemplo, edad, peso, salud general y similares, o cualquier combinación de los mismos. En un aspecto de esta realización, se administra una composición divulgada en el presente documento a una región de la piel de un individuo mediante inyección.

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

Además, una composición divulgada en el presente documento puede administrarse una vez o a lo largo de una pluralidad de veces. En última instancia, la programación usada seguirá las normas asistenciales de calidad. Por ejemplo, una composición de hidrogel divulgada en el presente documento puede administrarse una vez o a lo largo de varias sesiones con las sesiones separadas por unos pocos días o semanas. Por ejemplo, a un individuo se le puede administrar una composición de hidrogel divulgada en el presente documento cada 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7 días o cada 1, 2, 3 ó 4 semanas. La administración de una composición de hidrogel divulgada en el presente documento a un individuo puede ser mensual o bimestral o administrarse cada 3, 6, 9 ó 12 meses.

Los aspectos de la presente memoria descriptiva proporcionan, en parte, una región dérmica. Tal como se usa en el presente documento, el término “región dérmica” se refiere a la región de la piel que comprende la unión epidérmica-dérmica y la dermis incluyendo la dermis superficial (región papilar) y la dermis profunda (región reticular). La piel se compone de tres capas primarias: la epidermis, que proporciona impermeabilización y sirve como barrera contra las infecciones; la dermis, que sirve como ubicación para los apéndices de la piel; y la hipodermis (capa adiposa subcutánea). La epidermis no contiene vasos sanguíneos y se nutre por difusión desde la dermis. El principal tipo de células que forman la epidermis son los queratinocitos, los melanocitos, las células de Langerhans y las células de Merckels.

La dermis es la capa de piel debajo de la epidermis que consiste en tejido conjuntivo y amortigua el cuerpo frente a la tensión y la deformación. La dermis está estrechamente conectada a la epidermis por una membrana basal. También alberga muchas terminaciones nerviosas/mecanorreceptores que proporcionan el sentido del tacto y el calor. Contiene

folículos pilosos, glándulas sudoríparas, glándulas sebáceas, glándulas apocrinas, vasos linfáticos y vasos sanguíneos. Los vasos sanguíneos de la dermis proporcionan nutrición y eliminación de desechos de sus propias células, así como del estrato basal de la epidermis. La dermis se divide estructuralmente en dos áreas: un área superficial adyacente a la epidermis, denominada región papilar, y un área profunda más gruesa conocida como región reticular.

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

La hipodermis se encuentra debajo de la dermis. Su propósito es unir la región dérmica de la piel a los huesos y músculos subyacentes, así como suministrarle vasos sanguíneos y nervios. Consiste en tejido conjuntivo laxo y elastina. Los principales tipos de células son fibroblastos, macrófagos y adipocitos (la hipodermis contiene el 50% de la grasa corporal). La grasa sirve como amortiguación y aislamiento para el cuerpo.

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

Ventajosamente, algunas de las presentes composiciones son especialmente útiles y eficaces para reducir la aparición de líneas de expresión, por ejemplo, en regiones finas de la piel de un paciente. La región de la piel tratada puede ser cualquier región de la piel que tenga líneas de expresión o arrugas, por ejemplo, debido a la edad o la exposición a los rayos UV, y puede ser especialmente útil para tratar, por ejemplo, y suavizar el aspecto de la región del surco lagrimal, la región de la frente, arrugas glabellares o región periorbitaria.

Por ejemplo, se proporcionan métodos para el tratamiento de líneas de expresión que comprenden las etapas de administrar a una región dérmica de un paciente una composición de relleno dérmico tal como se describe en otra parte en el presente documento, a una profundidad no mayor de aproximadamente 1 mm. Cuando se administran así, las composiciones de estas realizaciones presentan una coloración azul reducida o no perceptible cuando se administran a una profundidad no mayor de aproximadamente 1,0 mm, no mayor de aproximadamente 0,8 mm, no mayor de aproximadamente 0,6 mm o no mayor de aproximadamente 4 mm o menos en la región dérmica.

Otros aspectos de la presente memoria descriptiva divulgan, en parte, un método de tratamiento de un estado de la piel que comprende la etapa de administrar a un individuo que padece un estado de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición mejora el estado de la piel, tratando así el estado de la piel. En un aspecto de esta realización, un estado de la piel es un método de tratamiento de la deshidratación de la piel que comprende la etapa de administrar a un individuo que padece deshidratación de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición rehidrata la piel, tratando así la deshidratación de la piel. En otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de una falta de la elasticidad de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece una falta de elasticidad de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición aumenta la elasticidad de la piel, tratando así una falta de elasticidad de la piel. Aún en otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de rugosidad de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece rugosidad de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición disminuye la rugosidad de la piel, tratando así la rugosidad de la piel. Todavía en otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de una falta de tersura de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece una falta de tersura de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición hace la piel más tersa, tratando así una falta de tersura de la piel.

En un aspecto adicional de esta realización, un método de tratamiento de una estría o marca de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece una estría o marca de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición reduce o elimina la estría o marca de la piel, tratando así una estría o marca de la piel. En otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de la palidez de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece palidez de la piel una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición aumenta el tono o la luminosidad de la piel, tratando así la palidez de la piel. En otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de arrugas de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo que padece arrugas de la piel una composición de hidrogel

divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición reduce o elimina arrugas de la piel, tratando así arrugas de la piel. Aún en otro aspecto de esta realización, un método de tratamiento de arrugas de la piel comprende la etapa de administrar a un individuo una composición de hidrogel divulgada en el presente documento, en el que la administración de la composición hace la piel resistente a arrugas de la piel, tratando así arrugas de la piel.

En un aspecto de la invención, se proporcionan rellenos dérmicos que son especialmente eficaces en el tratamiento y la eliminación de la aparición de líneas de expresión, por ejemplo, surcos en la piel relativamente superficiales, por ejemplo, pero sin limitarse a, líneas de expresión cerca de los ojos, la región del surco lagrimal, la frente, arrugas periorbitarias, glabellares, etc.

La aparición de una coloración azul en el sitio de la piel en el que se había inyectado un relleno dérmico, (efecto Tyndall) es un acontecimiento adverso significativo experimentado por algunos pacientes de relleno dérmico. El efecto Tyndall es más común en pacientes tratados para arrugas de líneas de expresión superficiales. Se han desarrollado realizaciones de la presente invención que proporcionan rellenos translúcidos de larga duración que pueden inyectarse de manera superficial para tratar líneas de expresión y arrugas, incluso en regiones de piel relativamente fina, sin ninguna coloración azul resultante del efecto Tyndall. Se entiende generalmente por líneas de expresión o arrugas superficiales aquellas arrugas o surcos en la piel que se encuentran normalmente en regiones del rostro (frente, ángulo lateral del ojo, borde libre de los labios/arrugas peribucales) donde la piel es más fina, es decir, la piel tiene un grosor de la dermis de menos de 1 mm. En la frente, el grosor dérmico promedio es de aproximadamente 0,95 mm para piel normal y de aproximadamente 0,81 mm para piel arrugada. La dermis alrededor del ángulo lateral del ojo es incluso más fina (por ejemplo, aproximadamente 0,61 mm para piel normal y aproximadamente 0,41 mm para piel arrugada). El diámetro exterior promedio de una aguja de calibre 30 ó 32 (aguja que se usan normalmente para la aplicación de gel de líneas expresión) es de aproximadamente 0,30 mm y aproximadamente 0,24 mm.

La presente invención proporciona una composición de relleno dérmico tal como se describe en otra parte en el presente documento, que no da como resultado efecto Tyndall, o no da como resultado ninguna coloración azul visualmente perceptible resultante del efecto Tyndall.

También se proporcionan métodos de tratamiento de líneas de expresión en la piel de un paciente. Los métodos comprenden generalmente las etapas de introducir en la piel de un paciente, una composición tal como se describe en el presente documento. Por ejemplo, las composiciones comprenden una mezcla de un componente de ácido hialurónico, un componente de reticulación que reticula el ácido hialurónico, y un aditivo distinto del componente de reticulación, siendo la composición ópticamente transparente de manera sustancial; y en el que la composición de relleno dérmico presenta un efecto Tyndall reducido en relación con la composición que es sustancialmente idéntica excepto sin el aditivo.

En realizaciones, se proporcionan geles que se reticulan con éster metílico de lisina, y tienen un G' de hasta aproximadamente 70 Pa, G''/G' por encima de aproximadamente 0,65, una fuerza de extrusión de aproximadamente 24 N o menos, y una concentración de HA final de hasta aproximadamente 25 mg/ml.

Muchos de los geles de relleno dérmico según la invención contienen lidocaína, por ejemplo, a una concentración de lidocaína de aproximadamente el 0,3% en peso.

Estos geles pueden elaborarse tal como se describe en el presente documento, y se proporcionan sólo como ejemplos específicos de composiciones según la invención. A continuación se proporcionan ejemplos adicionales.

Ejemplos

Geles de HA reticulados a través de química de clorhidrato de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida (EDC)

En los ejemplos 1 y 2 a continuación se describe la preparación de geles a base de HA reticulado, según determinadas realizaciones de la invención. En el ejemplo 1, el gel se elabora a través de química de EDC mediante el uso del agente reticulante hexametildiamina (HMDA), y en el ejemplo 2, 3-[3-(3-aminopropoxi)-2,2-bis(3-amino-propoximetil)-propoxi]-propilamina (amina de 4 brazos-4 AA). La reticulación se lleva a cabo en condiciones suaves, por ejemplo, temperatura ambiente, por ejemplo, de aproximadamente 20°C a aproximadamente 25°C, y, por ejemplo, a un pH bajo, por ejemplo, pH 5,4. Las condiciones de las reacciones se ajustan para preparar geles muy reticulados con propiedades de gel óptimas, excelente capacidad de inyección y altas concentraciones finales de HA (~ 24 mg/ml). Los inventores han descubierto que puede ser ventajoso reticular HA a muy bajas concentraciones de hidratación o reacción, con una cantidad moderada de o bien HMDA o bien 4 AA, junto con clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) y *N*-hidroxisuccinimida (NHS) o sulfonil-NHS (sulfo-NHS), los agentes de acoplamiento. Las ventajas pueden ser que puede reducirse el enlace éster entre el HA.

En una realización de la invención, se proporciona una composición de relleno dérmico para el tratamiento de arrugas en la piel en la que la composición comprende un componente de ácido hialurónico reticulado con 3-[3-(3-aminopropoxi)-2,2-bis(3-amino-propoximetil)-propoxi]-propilamina (4 AA) y un agente de acoplamiento de

carbodiimida.

Ejemplo 1 (Referencia)

5 Formulación de hidrogel de HA-4 AA

Se añadieron 13,33 g de tampón MES 100 mM pH 5,2, a una jeringa que contenía 400,2 mg de HA de bajo peso molecular (LMW). El HA de LMW puede tener un peso molecular medio de entre aproximadamente 310 KDa y aproximadamente 840 KDa, por ejemplo, menos de aproximadamente 600 KDa.

10 Se preparó una disolución de 4 AA disolviendo 492,1 mg de 4 AA en 999,2 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2, y añadiendo 757 µl de HCl 6 M para llevar el pH a 5,2.

15 Se preparó una disolución de EDC disolviendo 509,2 mg de EDC en 1156,4 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2, y en un vial independiente, se disolvieron 175 mg de NHS en 2635,8 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2. Tras la hidratación completa del HA, durante aproximadamente 1 hora, se añadieron 99 µl de la disolución de 4 AA al HA hidratado. Se homogeneizó la mezcla mezclando de jeringa a jeringa 10 veces.

20 Luego se añadieron 115 µl de disolución de EDC, 115 µl de disolución de NHS y 140 µl de tampón MES 100 mM pH 5,2 a la pasta homogeneizada y se mezcló mezclando de jeringa a jeringa 10 veces.

25 Luego se transfirió la mezcla a un vial y se reticuló a temperatura ambiente durante 5 horas, antes de la adición de 1,55 ml de tampón PBS 10X pH 7,4. Se dejó que el gel se hinchara durante 3 días sobre un rodillo después de lo cual se forzó a través de una malla de 60 µm de tamaño de poro.

Se transfirió el gel dimensionado a un tubo de diálisis de membrana de éster de celulosa MWCO 20 KDa y se sometió a diálisis frente a PBS 1X durante 4 días, cambiando el tampón dos veces al día.

30 Se dispensó el gel en jeringas de COC de 1 ml, se centrifugó a 5000 RPM durante 5 min, y se esterilizó con vapor húmedo. El gel tenía una concentración de HA final de 26 mg/ml.

35 En otra realización de la invención, se proporciona una composición de relleno dérmico para el tratamiento de arrugas superficiales en la piel en la que la composición comprende un componente de ácido hialurónico reticulado con un agente reticulante de diamina lineal, por ejemplo, hexametildiamina (HMDA) y un agente de acoplamiento de carbodiimida. La HMDA es el compuesto orgánico con la fórmula $H_2N(CH_2)_6NH_2$. La molécula es una diamina, que consiste en una cadena hidrocarbonada de hexametileno terminada con grupos funcionales amina. La composición de relleno dérmico se administra en una región dérmica de un paciente para mejorar el aspecto de la piel.

Ejemplo 2 (Referencia)

40

Formulación de un gel de HA/HMDA

Se añadieron 20,0 g de tampón MES 100 mM pH 5,2 a una jeringa que contenía 1000,7 mg de HA de LMW.

45 Se preparó una disolución de HMDA disolviendo 522 mg de HCl de HMDA en 2008,5 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2, y añadiendo 10 µl de NaOH 1 M para llevar el pH a 5,2.

50 Se preparó una disolución de EDC disolviendo 508 mg de EDC en 1188,5 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2, y en un vial independiente, se disolvieron 44,2 mg de NHS en 1340,7 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2. Tras la hidratación completa del HA, durante aproximadamente 1 hora, se añadieron 790 µl de la disolución de HMDA al HA hidratado. Se homogeneizó la mezcla mezclando de jeringa a jeringa 10 veces.

55 Luego se añadieron disoluciones de 490 µl de EDC y 490 µl de NHS a la pasta homogeneizada. Se mezcló la mezcla de nuevo mezclando de jeringa a jeringa 10 veces, y luego se transfirió a un vial y se reticuló a temperatura ambiente durante 5 horas, antes de la adición de 18,0 ml de tampón PBS 1X pH 7,4.

60 Se dejó que el gel se hinchara durante 3 días sobre un rodillo antes de forzarlo a través de una malla de 60 µm de tamaño de poro. Se colocó el gel dimensionado en un tubo de diálisis de membrana de éster de celulosa MWCO 20 KDa y se sometió a diálisis frente a IPA al 70% durante 30 min, antes de que el medio de diálisis se cambiara a PBS 1X. Luego se sometió a diálisis el gel durante 4 días cambiando el tampón dos veces al día.

Se dispensó el gel en jeringas de COC de 1 ml, se centrifugó a 5000 RPM durante 5 min para eliminar las burbujas de aire, y se esterilizó con vapor húmedo. La concentración de HA final del gel era de 25 mg/ml.

65 Aún en otra realización de la invención, se proporciona una composición de relleno dérmico para el tratamiento de

arrugas superficiales en la piel en la que la composición comprende un componente de ácido hialurónico reticulado con éster metílico de lisina y un agente de acoplamiento de carbodiimida. La lisina es un aminoácido esencial y tiene la fórmula química $C_6H_{14}N_2O_2$.

5 Ejemplo 3

Formulación de un hidrogel de HA/lisina

Se hidrataron 400,5 mg de HA de LMW durante 30 min en una jeringa añadiendo 8,0 g de tampón MES 100 mM pH 5,2. Se preparó una disolución de éster metílico de lisina (LME) disolviendo 400,3 mg de HCl de LME en 1046,6 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2 en un vial. Se preparó una disolución de EDC disolviendo 288 mg de EDC en 1357,1 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2 en un vial pequeño, y se preparó una disolución de NHS disolviendo 61,0 mg de NHS en 962,8 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2 en un vial independiente. Tras la hidratación completa de HA, se añadieron 261 μ l de disolución de LME al HA hidratado. Se homogeneizó la mezcla mezclando de jeringa a jeringa, 10 veces, antes de añadir 387 μ l de disolución de EDC y 372 μ l de disolución de NHS. Se mezcló de nuevo la pasta mezclando de jeringa a jeringa 10 veces. Luego se transfirió la mezcla a un vial y se reticuló a temperatura ambiente durante 5 h. Luego se añadieron 6,21 ml de tampón PBS 1X pH 7,4 al gel reticulado. Se dejó que el gel se hinchara durante 3 días sobre un rodillo antes de dimensionarlo forzándolo a través de una malla de acero inoxidable de 60 μ m de tamaño de poro. Para convertir este hidrogel de HA-éster metílico de lisina en hidrogel de HA-lisina, se añadió una pequeña cantidad de disolución de NaOH al gel y se mezcló para elevar el pH del gel hasta aproximadamente 12. Luego se colocó la mezcla en un baño de agua ajustado a 50°C durante 5 min antes de la adición de ácido clorhídrico para devolver el pH a ~7,4. Luego se colocó el gel en un tubo de diálisis de membrana de éster de celulosa MWCO 20 kDa y se sometió a diálisis frente a IPA al 70% durante 30 min, antes de que el medio de diálisis se cambiara a PBS 1X. Se dispensó el gel en jeringas de COC de 1 ml, se centrifugó a 5000 RPM durante 5 min para eliminar las burbujas de aire, y se esterilizó con vapor húmedo. La concentración de HA final del gel era de 26 mg/ml.

Ejemplo 4

Determinación de las propiedades reológicas de los geles de los ejemplos 1-3.

Se usó un reómetro oscilatorio de placas paralelas, Anton Paar Physica MCR 301, para medir las propiedades reológicas de los geles. Se usó un diámetro de placa de 25 mm a una altura de hueco de 1 mm. Se realizaron mediciones a una temperatura constante de 25°C. Cada medición consistió en un barrido de frecuencia desde 1 hasta 10 Hz a una deformación constante del 2% y un aumento logarítmico de frecuencia seguido por un barrido de deformación desde el 1 hasta el 300% a una frecuencia constante de 5 Hz con un aumento logarítmico de la deformación. Se obtuvieron el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de viscosidad (G'') a partir del barrido de deformación al 1% de deformación.

Tabla 2

Módulos de almacenamiento y de viscosidad de geles obtenidos desde el ejemplo 1 hasta el ejemplo 3

ID de muestra	Módulo de almacenamiento (G') Pa	Módulo de viscosidad (G'') Pa
Ejemplo 1	263	49
Ejemplo 2	340	43
Ejemplo 3	560	90

Ejemplo 5

Mediciones de fuerza de extrusión de geles de los ejemplos 1-3

Se midió la fuerza requerida para extruir los geles a través de una aguja de calibre 30 mediante el uso de un dispositivo Instron 5564 y el software Bluehill 2. Se extruyeron los geles desde una jeringa de COC de 1 ml a través de una aguja TSK de 30G½. Se empujó el émbolo a una velocidad de 100 mm/min durante 11,35 mm, y se registró la fuerza de extrusión.

Tabla 3

Fuerza de extrusión de geles obtenidos desde el ejemplo 1 hasta el ejemplo 3

ID de muestra	Fuerza de extrusión (N)
Ejemplo 1	89

Ejemplo 2	32
Ejemplo 3	30

Ejemplo 6

Pruebas de biocompatibilidad de los geles de los ejemplos 1-3

Se implantaron por vía intradérmica inyecciones de gel en bolo de 50 µl en la superficie dorsal de ratas Sprague Dawley. Se retiraron los implantes a la semana y se analizaron mediante histología con tinción con hematoxilina y eosina (H&E), y tinción con CD68 que es un marcador para células de inflamación mononucleares. Se puntuaron tres imágenes 20X de CD68 desde 0 hasta 4 basándose en el grado de tinción. Luego se promediaron estos valores para dar una puntuación de muestra. Se analizaron cuatro muestras a partir de cada gel. Los materiales con puntuación por encima de 3,1 se cree que son proinflamatorios.

Tabla 4. Puntuaciones de CD68 promedio de hidrogeles de los ejemplos 1 a 3

ID de muestra	Puntuación de CD68 promedio
Ejemplo 1	1,4
Ejemplo 2	2,4
Ejemplo 3	2,1

Ejemplo 7

Pruebas de citotoxicidad de los geles de los ejemplos 1-3

Se realizaron pruebas de citotoxicidad *in vitro* de los geles mediante NAMSA según el método de superposición de agarosa de la norma ISO 10993-5: Biological Evaluation of Medical Devices (Evaluación biológica de dispositivos médicos) - Parte 5: Tests for *In vitro* Cytotoxicity (Pruebas para citotoxicidad *in vitro*). Se dosificó en pocillos por triplicado 0,1 ml de artículos de prueba colocados en un disco filtrado, así como disolución de NaCl al 0,9%, polietileno de alta densidad de 1 cm de longitud como control negativo, y una porción de látex de 1 x 1 cm² como control positivo. Se colocó cada uno sobre una superficie de agarosa recubriendo directamente una monocapa de células de fibroblasto de ratón L929. Después incubación a 37°C en el 5% de CO₂ durante 24 h. Se examinaron los cultivos macroscópica y microscópicamente para determinar cualquier morfología celular anómala y lisis celular. Se puntuaron los artículos de prueba desde 0 hasta 4 basándose en la zona de la lisis en la proximidad de las muestras. Los materiales de prueba de los ejemplos 1, 2 y 3 puntuaron 0 ya que los artículos de prueba no mostraron evidencia de provocar lisis celular o toxicidad.

Ejemplo 8 (Referencia)

Reticulación de HA con 4 AA mediante el uso de EDC y NHS como agentes de acoplamiento.

Se añadieron 32,55 g de tampón MES 100 mM pH 5,2 a una jeringa que contenía 1000,4 mg de HA de LMW. Se preparó una disolución de 4 AA disolviendo 256,3 mg de 4 AA en 1039,8 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2, y añadiendo 380 µl de HCl 6 M para llevar el pH a 5,2. Se preparó una disolución de EDC disolviendo 251,2 mg de EDC en 1013,8 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2, y en un vial independiente, se disolvieron 74,7 mg de NHS en 2020,0 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2. Tras la hidratación completa del HA, ~ 1 h, se añadieron 260 µl de la disolución de 4 AA al HA hidratado. Se homogeneizó la mezcla mezclando de jeringa a jeringa 10 veces. Luego se añadieron disoluciones de 277 µl de EDC y 273 µl de NHS a la pasta homogeneizada y se mezcló de nuevo mezclando de jeringa a jeringa 10 veces. Luego se transfirió la mezcla a un vial y se reticuló a temperatura ambiente durante 5 h antes de la adición de 6,4 ml de tampón PBS 10X pH 7,4. Se dejó que el gel se hinchara durante 3 días sobre un rodillo antes de forzarlo a través de una malla de 60 µm de tamaño de poro. Se colocó el gel dimensionado en un tubo de diálisis de membrana de éster de celulosa MWCO 20 kDa y se sometió a diálisis frente a PBS 1X durante 4 días cambiando el tampón dos veces al día. Se dispensó el gel en jeringas de COC de 1 ml, se centrifugó a 5000 RPM durante 5 min, y se esterilizó con vapor húmedo. El gel tenía una concentración de HA final de 23 mg/ml.

Ejemplo 9 (Referencia)

Reticulación de HA con HMDA mediante el uso de EDC y NHS como agentes de acoplamiento

Se añadieron 20,0 g de tampón MES 100 mM pH 5,2 a una jeringa que contenía 1000,0 mg de HA de LMW. Se preparó una disolución de HMDA disolviendo 260,9 mg de clorhidrato de HMDA en 2010,5 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2, y añadiendo 2 µl de NaOH 1 M para llevar el pH a 5,2. Se preparó una disolución de EDC disolviendo 254,2 mg de EDC en 1188,4 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2, y en un vial independiente, se disolvieron 44,3 mg de NHS

en 1341,8 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2. Tras la hidratación completa del HA, ~ 1 h, se añadieron 790 µl de la disolución de HMDA al HA hidratado. Se homogeneizó la mezcla mezclando de jeringa a jeringa 10 veces. Luego se añadieron disoluciones de 490 µl de EDC y 490 µl de NHS a la pasta homogeneizada y se mezcló de nuevo mezclando de jeringa a jeringa 10 veces. Luego se transfirió la mezcla a un vial y se reticuló a temperatura ambiente durante 5 h antes de la adición de 17,9 ml de tampón PBS 1X pH 7,4. Se dejó que el gel se hinchara durante 3 días sobre un rodillo antes de forzarlo a través de una malla de 60 µm de tamaño de poro. Se colocó el gel dimensionado en un tubo de diálisis de membrana de éster de celulosa MWCO 20 kDa y se sometió a diálisis frente a PBS 1X durante 4 días cambiando el tampón dos veces al día. Se dispensó el gel en jeringas de COC de 1 ml, se centrifugó a 5000 RPM durante 5 min, y se esterilizó con vapor húmedo. La concentración de HA final del gel era de 25 mg/ml

Ejemplo 10

Hidrogeles de HA-lisina mediante el uso de EDC y NHS como agentes de acoplamiento

Se añadieron 8,06 g de tampón MES 100 mM pH 5,2 a una jeringa que contenía 400,3 mg de HA de LMW. Se preparó una disolución de clorhidrato de éster metílico de lisina disolviendo 400,3 mg de clorhidrato de éster metílico de lisina en 1046,6 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2. Se preparó una disolución de EDC disolviendo 287,6 mg de EDC en 1364,6 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2, y en un vial independiente, se disolvieron 60,2 mg de NHS en 962,8 mg de tampón MES 100 mM pH 5,2. Tras la hidratación completa del HA, ~ 1 h, se añadieron 132 µl de la disolución de clorhidrato de éster metílico de lisina al HA hidratado. Se homogeneizó la mezcla mezclando de jeringa a jeringa 10 veces. Luego se añadieron disoluciones de 196 µl de EDC y 190 µl de NHS a la pasta homogeneizada y se mezcló de nuevo mezclando de jeringa a jeringa 10 veces. Luego se transfirió la mezcla a un vial y se reticuló a temperatura ambiente durante 5 h antes de la adición de 6,67 ml de tampón PBS 1X pH 7,4. Se dejó que el gel se hinchara durante 3 días sobre un rodillo antes de forzarlo a través de una malla de 60 µm de tamaño de poro. Para convertir el hidrogel de HA-éster metílico de lisina en hidrogel de HA-lisina, se añadió una pequeña cantidad de disolución de NaOH al gel y se mezcló para elevar el pH del gel hasta aproximadamente 12. Luego se colocó la mezcla en un baño de agua ajustado a 50°C durante 5 min antes de la adición de ácido clorhídrico para devolver el pH a ~7,4. Se colocó el gel dimensionado en un tubo de diálisis de membrana de éster de celulosa MWCO 20 kDa y se sometió a diálisis frente a PBS 1X durante 4 días cambiando el tampón dos veces al día. Se dispensó el gel en jeringas de COC de 1 ml, se centrifugó a 5000 RPM durante 5 min, y se esterilizó con vapor húmedo. El gel tenía una concentración de HA final de 26 mg/ml.

Ejemplo 11

Geles que contienen lidocaína

Se añadieron 1858 mg de HCl de lidocaína en un matraz aforado de 5 ml. Se llenó el matraz hasta la marca con tampón PBS 1X para dar una concentración de HCl de lidocaína de 372 mg/ml. Luego se añadieron 200 µl de esta disolución de lidocaína a 24,5 mg de gel de los ejemplos 8, 9 y 10 en una jeringa. Se forzó la mezcla a otra jeringa a través de un conector. Se repitió este procedimiento 20 veces para obtener una mezcla homogénea.

Ejemplo 12

Determinación de las propiedades reológicas de los geles en los ejemplos 8-10

Se usó un reómetro oscilatorio de placas paralelas, Anton Paar Physica MCR 301, para medir las propiedades reológicas de los geles. Se usó un diámetro de placa de 25 mm a una altura de hueco de 1 mm. Se realizaron mediciones a una temperatura constante de 25°C. Cada medición consistió en un barrido de frecuencia desde 1 hasta 10 Hz a una deformación constante del 2% y un aumento logarítmico de frecuencia seguido por un barrido de deformación desde el 1 hasta el 300% a una frecuencia constante de 5 Hz con un aumento logarítmico de la deformación. Se obtuvieron el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de viscosidad (G'') a partir del barrido de deformación al 1% de deformación.

Tabla 5. Módulos de almacenamiento y de viscosidad de geles obtenidos desde el ejemplo 8 hasta el ejemplo 10

ID de muestra	Módulo de almacenamiento (G') Pa	Módulo de viscosidad (G'') Pa
Ejemplo 8	41	29,5
Ejemplo 9	67	42
Ejemplo 10	66	40

Ejemplo 13

Mediciones de fuerza de extrusión de geles en los ejemplos 8-10

Se midió la fuerza requerida para extruir los geles a través de una aguja de calibre 30 mediante el uso de un dispositivo Instron 5564 y el software Bluehill 2. Se extruyeron los geles desde una jeringa de COC de 1 ml a través de una aguja TSK de 30G½. Se empujó el émbolo a una velocidad de 100 mm/min durante 11,35 mm, y se registró la fuerza de extrusión.

Tabla 6. Fuerza de extrusión de geles obtenidos desde el ejemplo 1 hasta el ejemplo 4

ID de muestra	Fuerza de extrusión (N)
Ejemplo 8	19,5
Ejemplo 9	22
Ejemplo 10	22

Ejemplo 14

Pruebas de citotoxicidad de geles, norma ISO 10993-5, ejemplos 8-10

Se realizaron pruebas de citotoxicidad *in vitro* de los geles mediante NAMSA según el método de superposición de agarosa de la norma ISO 10993-5: Biological Evaluation of Medical Devices (Evaluación biológica de dispositivos médicos) - Parte 5: Tests for *In vitro* Cytotoxicity (Pruebas para citotoxicidad *in vitro*). Se dosificó en pocillos por triplicado 0,1 ml de artículos de prueba colocados en un disco filtrado, así como disolución de NaCl al 0,9%, polietileno de alta densidad de 1 cm de longitud como control negativo, y una porción de látex de 1 x 1 cm² como control positivo. Se colocó cada uno sobre una superficie de agarosa recubriendo directamente una monocapa de células de fibroblasto de ratón L929. Después incubación a 37°C en el 5% de CO₂ durante 24 h. Se examinaron los cultivos macroscópica y microscópicamente para determinar cualquier morfología celular anómala y lisis celular. Se puntuaron los artículos de prueba desde 0 hasta 4 basándose en la zona de la lisis en la proximidad de las muestras. Los materiales de prueba de los ejemplos 8, 9 y 10 puntuaron 0 ya que los artículos de prueba no mostraron evidencia de provocar lisis celular o toxicidad.

Ejemplo 15

Evaluación de Tyndall de los geles

Para apoyar adicionalmente las observaciones visuales y llevar a cabo un análisis de rendimiento comparativo de los rellenos de HA, se realizó un análisis cuantitativo del efecto Tyndall. Basándose en el conocimiento científico existente sobre la dispersión de la luz y la interacción de la luz con la piel, se emplearon dos enfoques distintos basados en (a) colorimetría y (b) espectroscopía para cuantificar el efecto Tyndall en la piel. Basándose en estas técnicas, se definieron tres parámetros cuantitativos distintos (explicados resumidamente a continuación) para medir el efecto Tyndall *in vivo*.

Puntuación visual del efecto Tyndall: La escala tenía un intervalo de 1 a 5 con incrementos de 0,5. Se dio una puntuación de 1 a los sitios de inyección con tono de piel normal y sin coloración azul. Se dio una puntuación máxima de 5 a la coloración azul espesa y pronunciada (generalmente asociada con Restylane o Juvéderm Ultra Plus). Se entrenó a tres observadores independientes en la escala antes del enmascaramiento para puntuar las muestras de prueba.

Componente azul del color de la piel – “b”: Se usó un cromatómetro (CM2600D, Konica Minolta, NJ) para cuantificar el componente de color azul de la luz remitida por los sitios de la piel inyectados con los diversos rellenos. Esto se logró mediante el uso del componente “b” de la escala de colores L-a-b.

“% de luz azul” remitida por la piel: Se usó un espectrofotómetro portátil (CM2600D, Konica Minolta, NJ) para cuantificar el % de luz azul remitida por la piel en el intervalo de luz visible total. Esto se logró integrando el área bajo el espectro de luz visible entre 400 y 490 nm y normalizándola por el área total bajo el espectro (400-700 nm).

Se inyectaron por vía intradérmica los geles de la presente divulgación y geles comerciales a través de una aguja TSK de 27G½ mediante el uso de la técnica de enhebrado lineal en los muslos de ratas sin pelo de dos meses de edad. Se implantaron de manera superficial los geles para imitar los procedimientos clínicos de las líneas de expresión. Las pruebas para determinar el efecto Tyndall se realizaron 48 h después de la implantación del gel. Antes de la realización de las pruebas de Tyndall, se sacrificaron los animales para mejorar el contraste del efecto Tyndall.

Dos días después de la implantación de los geles se encontró que los geles de los ejemplos 8 a 10 no presentaron un efecto Tyndall discernible. Los geles para líneas comerciales (Juvederm Refine y Restylane Touch, mostraron una marcada coloración azulada. (Véase la figura 1).

Se usó una puntuación visual de 1 - 5 con incrementos de 0,5, para puntuar los sitios de inyección. Los sitios de inyección con puntuación de 1 no mostraron coloración de la piel, mientras que los sitios de las inyecciones con puntuación de 5 mostraron coloración azul fuerte de la piel. También se realizaron análisis espectroscópicos en los sitios de inyección con la ayuda de un cromatómetro (CM2600D, Konica Minolta, NJ). Se midieron independientemente el componente azul del color "b" de la piel, y el % de luz azul remitida desde la piel (400 – 700 nm). Los geles de los ejemplos 8-10 no presentaron un efecto Tyndall discernible, y tenían puntuación visual de Tyndall y valores de % de luz azul remitida menores. Los valores de puntuación de Tyndall y % de luz azul remitida fueron mayores para los geles comerciales.

Debe interpretarse que los términos "un", "una", "el/la" y referentes similares usados en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) cubren tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o se contradiga claramente por el contexto. La enumeración de intervalos de valores en el presente documento pretende servir simplemente como un método abreviado para hacer referencia individualmente a cada valor por separado que se encuentre dentro del intervalo. A menos que se indique lo contrario en el presente documento, cada valor individual se incorpora en la memoria descriptiva como si se enumerara individualmente en el presente documento. Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o el lenguaje a modo de ejemplo (por ejemplo, "tal como") proporcionado en el presente documento pretende únicamente aclarar mejor la invención. Nada del lenguaje en la memoria descriptiva debe interpretarse como indicativo de cualquier elemento no reivindicado esencial para la puesta en práctica de la invención.

Las realizaciones específicas divulgadas en el presente documento pueden limitarse adicionalmente en las reivindicaciones usando las expresiones que consiste en o que consiste esencialmente en. Cuando se usa en las reivindicaciones, ya sea tal como se presentaron o añadido por modificación, el término de transición "que consiste en" excluye cualquier elemento, etapa o componente no especificado en las reivindicaciones. El término de transición "que consiste esencialmente en" limita el alcance de una reivindicación a los materiales o etapas especificados y aquellos que no afectan materialmente a la(s) característica(s) básica(s) y nueva(s). Las realizaciones de la invención así reivindicadas se describen y se permiten de manera inherente o expresa en el presente documento.

REIVINDICACIONES

1. Método de elaboración de una composición de relleno dérmico inyectable que comprende ácido hialurónico (HA) reticulado con lisina para tratar arrugas en la piel, comprendiendo el método las etapas de reticular HA con un agente reticulante de diamina en presencia de un agente de acoplamiento de carbodiimida
5 en el que el agente reticulante de diamina es lisina o éster metílico de lisina y
en el que el ácido hialurónico reticulado está presente en el hidrogel a una concentración de 10 a 40 mg/ml.
10
2. Método según la reivindicación 1, en el que el agente de acoplamiento es clorhidrato de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida (EDC).
15
3. Método según la reivindicación 1, en el que la reticulación tiene lugar en presencia de clorhidrato de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida (EDC).
15
4. Método según la reivindicación 1, en el que la reticulación tiene lugar en presencia de N-hidroxisuccinimida (NHS) o N-hidroxisulfosuccinimida (sulfoNHS).
20
5. Composición de relleno dérmico que comprende ácido hialurónico (HA) reticulado con lisina para el tratamiento de arrugas en la piel, comprendiendo la composición:
un componente de HA reticulado junto con un agente reticulante de diamina y un agente de acoplamiento de carbodiimida
25 en la que el agente reticulante de diamina es lisina o éster metílico de lisina,
mediante lo cual el ácido hialurónico reticulado está presente en el hidrogel a una concentración de 10 a 40 mg/ml.
30
6. Composición según la reivindicación 5, en la que el agente de acoplamiento de carbodiimida es una carbodiimida soluble en agua.
35
7. Composición según la reivindicación 5, en la que el agente de acoplamiento de carbodiimida es clorhidrato de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida (EDC).

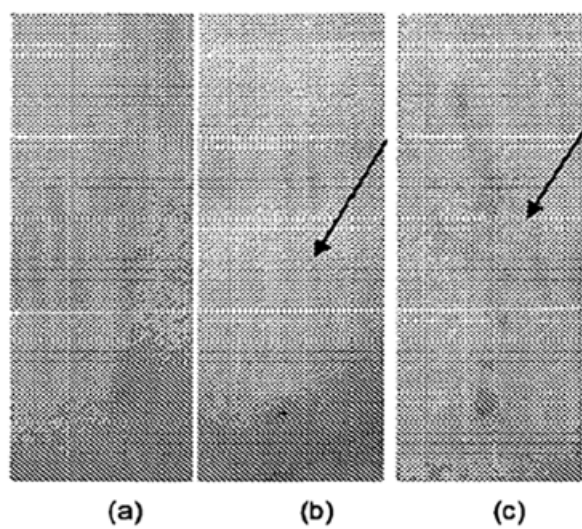


Figura 1. Imágenes de geles en la piel del (a) ejemplo 8 de la invención, (b) relleno de líneas de expresión comercial I y (c) relleno de líneas de expresión comercial II