



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 329 430**

51 Int. Cl.:
A61L 15/28 (2006.01)
A61L 27/00 (2006.01)
C12N 5/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **99929241 .0**
96 Fecha de presentación : **16.06.1999**
97 Número de publicación de la solicitud: **1087797**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.04.2001**

54 Título: **Prótesis tridimensionales que contienen derivados del ácido hialurónico.**

30 Prioridad: **17.06.1998 IT PD98A0149**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
25.11.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
25.11.2009

73 Titular/es: **FIDIA ADVANCED BIOPOLYMERS S.R.L.**
Via Ponte della Fabbrica 3/B
35031 Abano Terme, Padova, IT

72 Inventor/es: **Pastorello, Andrea;**
Radice, Marco y
Callegaro, Lanfranco

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

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

Prótesis tridimensionales que contienen derivados del ácido hialurónico.

5 **Sector técnico al que pertenece la invención**

La presente invención describe prótesis tridimensionales y procesos para su preparación.

10 Las prótesis tridimensionales de la presente invención pueden utilizarse solas o asociadas a sustancias farmacológica o biológicamente activas, y pueden utilizarse como tales o actuar como soporte para cultivos celulares. Dichas prótesis tridimensionales son útiles para la reconstrucción de partes del cuerpo humano o de animales, en cirugía y en neurocirugía.

15 **Antecedentes técnicos**

Las prótesis diseñadas para ser implantadas se fabrican habitualmente con materiales sintéticos o materiales naturales tratados.

20 Los defectos de las paredes corporales, como por ejemplo las paredes abdominales, que no pueden repararse mediante tejidos autógenos debido a la extensión de la lesión, pueden tratarse, por ejemplo, con mallas sintéticas.

De hecho, los materiales utilizados habitualmente en las prótesis utilizadas para reforzar la pared abdominal lesionada son la gasa de tantalio, las mallas de acero inoxidable, los tejidos de polipropileno, el e-PTFE microporoso, la poligalactina 910, el poliéster, el ácido poliglicólico, y el pericardio bovino reticulado.

30 Sin embargo, no ha sido posible hasta la fecha obtener una recuperación satisfactoria del tejido dañado o de los órganos deteriorados mediante la implantación de prótesis artificiales tales como las prótesis cardíacas u óseas fabricadas de polímeros sintéticos o metales.

De hecho, estos tipos de prótesis tienden a provocar reacciones inflamatorias en el huésped, raramente se integran con facilidad en el microambiente circundante, provocan la formación de fibrosis y están sometidas a desgaste mecánico, requiriendo por tanto controles periódicos.

35 Una alternativa es transplantar tejidos u órganos autólogos, o más frecuentemente transplantes alógenos o xenógenos. Esta solución presenta diversas desventajas, tales como las reacciones inmunológicas, las infecciones y la escasez de donantes.

40 Recientemente, ha ido implantándose una nueva práctica biomédica conocida como ingeniería de tejidos. Mediante esta técnica, pueden obtenerse tejidos similares a los del organismo mediante la obtención de células mediante pequeñas biopsias, expandiéndolas en cultivo y cultivándolas en soportes biodegradables. Dichos tejidos, por ejemplo piel, cartílago y hueso, se crean *in vitro* y a continuación se implantan en el paciente (EP 0462426, WO 97/18842).

45 Otros tejidos en los cuales se está progresando para mejorar las técnicas de reconstrucción son los de partes visibles o apéndices del cuerpo humano tales como orejas, nariz, pezones, labios y mamas.

Hasta la fecha ha sido particularmente dificultoso reconstruir el pabellón auditivo debido a las dificultades asociadas con la ubicación anatómica de la oreja, en la cual cualquier asimetría de tamaño, forma o posición son evidentes de forma inmediata. Además, es difícil reproducir la forma compleja de un cartílago de perfil irregular recubierto de piel.

50 Se han utilizado diversas técnicas para reconstruir la oreja, según la gravedad de la lesión. En los casos en los que solamente ha quedado amputada una parte de la oreja, se utilizan para reconstruir la parte dañada trozos de la misma oreja o tejidos circundantes, o bien se implantan en el lugar trozos de cartílago intercostal que a continuación se cubren con tiras de la piel adyacente, de manera que el implante puede vascularizarse.

55 Cuando el pabellón auditivo ha sido amputado casi completamente, pueden utilizarse prótesis auriculares sintéticas. Éstas presentan, sin embargo, diversos inconvenientes, tales como la necesidad de un cuidado diario, la lesión de la piel circundante tanto debido al contacto directo con la prótesis como a los potentes adhesivos necesarios para fijarla en posición. Sin embargo, algunas prótesis se implantan directamente en el hueso.

Otro método de reconstrucción consiste en incrementar el volumen de tejido todavía disponible mediante expansores.

65 Finalmente, en ocasiones se utiliza una técnica quirúrgica muy compleja realizada en varias etapas en tiempos diferentes, que da resultados aceptables solamente después de meses de tratamiento.

Brevemente, esta técnica consiste en tomar una parte de cartílago intercostal del paciente y darle una forma similar al oído externo. Habitualmente el cartílago se implanta en primer lugar a nivel subcutáneo en el antebrazo o la espalda para que se vascularice, y se extrae en diversas ocasiones para volver a darle forma.

- 5 Cuando el implante alcanza un nivel satisfactorio de madurez, se implanta en el lugar de la oreja y se cubre con una tira de piel adyacente.

Finalmente, el paciente tiene que ser sometido a intervenciones adicionales para mejorar la calidad estética del implante.

10 A parte del inconveniente que supone tener que realizar al paciente tantas intervenciones diferentes, esta técnica supone la utilización de cartílago intercostal que posee características diferentes al de la oreja, como por ejemplo su menor elasticidad.

- 15 Desafortunadamente, estas prótesis con frecuencia no se enraízan y degeneran hasta el punto de producirse una necrosis generalizada y el fracaso del trasplante, o, más raramente, el cartílago se transforma en hueso (calcificación).

20 El material ideal para dichas prótesis es, por tanto, un material químicamente inerte, no carcinogénico, capaz de resistir la tensión mecánica y capaz de ser moldeado en la forma deseada, esterilizable, no tendente a la modificación física por los fluidos corporales, no debe inducir reacciones inflamatorias, inmunológicas, alérgicas o de hipersensibilidad y no debe promover las adhesiones viscerales (Jenkins S. D. y otros Surgery 94 (2); 392-398, 1983).

Resumen de la invención

25 La presente invención describe prótesis tridimensionales con forma de una parte del cuerpo seleccionada del grupo formado por pabellón auditivo, nariz, tabique nasal, faringe, laringe, tráquea, articulaciones, estructuras óseas, órbita, válvulas cardíacas, vasos sanguíneos, pezones, ombligo, órganos internos y sus partes y órganos sexuales secundarios, comprendiendo al menos una matriz tridimensional que posee una estructura porosa y contiene al menos un derivado
30 del ácido hialurónico, cuando dicha prótesis contiene al menos dos de dichas matrices tridimensionales, la primera de dichas matrices tridimensionales está incorporada o adherida a una segunda y otras posibles matrices que poseen una estructura porosa o fibrosa, dicha o dichas matrices tridimensionales opcionalmente están incorporadas y/o adheridas a una matriz perforada bidimensional y contienen un derivado de ácido hialurónico.

- 35 Dicha prótesis tridimensional comprende además células seleccionadas del grupo formado por células maduras o mesenquimales autólogas o endógenas, o sistemas complejos de células mesenquimales y diferentes tipos de células maduras.

40 Descripción detallada de la invención

De acuerdo con una realización preferente, las prótesis de la presente invención comprenden una matriz (A) seleccionada del grupo formado por:

- 45 A1. Una matriz tridimensional que posee una estructura fibrosa
A2. Una matriz tridimensional que posee una estructura porosa
A3. Una matriz bidimensional perforada

50 dicha matriz (A) se incorpora y/o adhiere a una matriz seleccionada del grupo formado por:

- B. Una matriz tridimensional que posee una estructura porosa en el caso de que (A) sea (A1) o (A3)
55 C. Una matriz tridimensional que posee una estructura fibrosa en el caso de que (A) sea (A2)
D. Una matriz bidimensional perforada en el caso de que (A) sea (A2), comprendiendo dichas matrices (A), (B), (C), (D) al menos un derivado del ácido hialurónico.

60 Entre los derivados del ácido hialurónico utilizables en la preparación de la prótesis tridimensional de acuerdo con la presente invención, son de elección los siguientes: ésteres de ácido hialurónico en los que una parte o todas las funciones carboxi se encuentran esterificadas con alcoholes de las series alifática, aromática, arilalifática, cicloalifática y heterocíclica (EP 0216453 B1 incorporada en su totalidad como referencia), especialmente con alcohol bencílico; ésteres reticulados de ácido hialurónico en los que una parte o todos los grupos carboxi se encuentran esterificados
65 con funciones alcohol de la misma cadena polisacárida o de otras cadenas (EP 0341745 B1 incorporada en su totalidad como referencia), compuestos reticulados de ácido hialurónico en los que una parte o todos los grupos carboxi se encuentran esterificados con polialcoholes de las series alifática, aromática, arilalifática, cicloalifática y heterocí-

clica, generándose la reticulación mediante cadenas separadoras (EP 0265116 B1 incorporada en su totalidad como referencia); hemi-ésteres de ácido succínico o sales de metales pesados del hemi-éster de ácido succínico con ácido hialurónico o con ésteres totales o parciales de ácido hialurónico (WO 96/357207 incorporada en su totalidad como referencia); derivados O-sulfatados (WO 95/25751 incorporada en su totalidad como referencia) o derivados N-sulfatados (PCT/EP98/01973 incorporada en su totalidad como referencia); sales de amonio cuaternario, tales como sales con tetrabutilamonio o feniltrimetilamonio del ácido hialurónico o un derivado del ácido hialurónico seleccionado del grupo formado por ácido hialurónico N-sulfatado, ácido hialurónico O-sulfatado, hemi-ésteres de ácido succínico con ácido hialurónico y opcionalmente parcialmente salificados con metales pesados.

Las matrices (A1) y (C) que poseen esencialmente una estructura fibrosa contenida en la prótesis de acuerdo con la presente invención son preferentemente en forma de tejido no tejido o en forma de mallas.

El tejido no tejido que contiene derivados del ácido hialurónico se prepara tal como se describe en la patente US 5.520.916 que se incorpora en su totalidad a la presente invención como referencia.

Dichas prótesis poseen la ventaja de ser fácilmente fabricables con cualquier forma, por compleja que sea, y además, según la estructura química del derivado del ácido hialurónico utilizado y según el grado de esterificación poseen la ventaja de poseer una resistencia a la fractura y tiempos de degradación que pueden ajustarse según los requisitos del área a reconstruir.

Dichas prótesis pueden contener también asociaciones de polímeros naturales, semisintéticos y sintéticos.

Los polímeros que se pueden utilizar son, por ejemplo, colágeno, coprecipitados de colágeno y glicosaminoglicanos, celulosa, polisacáridos en forma de geles tales como quitina, quitosano, pectina o ácido péctico, agar, agarosa, xantano, gelano, ácido alginico o alginatos, polimano o poliglicanos, almidones y gomas naturales. Los polímeros semisintéticos pueden escogerse, por ejemplo, del grupo formado por aldehídos o precursores de los mismos, ácidos dicarboxílicos o sus halogenuros, diaminas, derivados de celulosa, ácido hialurónico, quitina, quitosano, gelano, xantano, pectina o ácido péctico, poliglicanos, polimanano, agar, agarosa, goma natural y glicosaminoglicanos. Finalmente, son ejemplos de polímeros sintéticos que pueden utilizarse, por ejemplo, ácido poliláctico, ácido poliglicólico o copolímeros de los mismos o sus derivados, polidioxanos, polifosfacenos, resinas polisulfónicas, poliuretanos y PTFE.

Dado que las prótesis, de acuerdo con la presente invención, están formadas por derivados del ácido hialurónico, son capaces de estimular la regeneración tisular y el crecimiento celular en sus superficies.

Dichas prótesis, de hecho, pueden utilizarse como tales o como soporte para cultivos celulares para la reconstrucción de partes del cuerpo humano o de animales que han sido dañadas o que están ausentes tras un traumatismo o debido a defectos congénitos.

En el primer caso, las células endógenas colonizan la prótesis in vivo, mientras que en el segundo caso se cultivan células autólogas sobre la prótesis antes de la implantación.

También es posible cultivar células maduras o mesenquimales que pueden hacerse diferenciarse en la línea celular deseada; también pueden cultivarse sistemas complejos de diferentes tipos celulares.

Las prótesis, de acuerdo con la presente invención, también pueden contener sustancias farmacéutica o biológicamente activas, tales como agentes anti-inflamatorios, antibióticos, factores de crecimiento, antimicóticos, antimicrobianos y agentes antivirales.

Dichos productos, solos o conteniendo cultivos celulares, pueden utilizarse en neurocirugía y cirugía general, interna, otorrinolaringológica, plástica, estética, oncológica, ortopédica, cardiovascular, ginecológica y abdominal.

Las partes corporales que pueden ser reconstruidas mediante las prótesis son, por ejemplo, el pabellón auditivo, la nariz, el tabique nasal, la faringe, la laringe, la tráquea, articulaciones como por ejemplo los nudillos y las articulaciones temporomandibulares, estructuras óseas y, además, la órbita ocular, válvulas cardíacas, vasos sanguíneos, pezones, órganos internos y sus partes y órganos sexuales secundarios.

En el caso de la reconstrucción de una parte del cuerpo humano con una forma compleja como, por ejemplo, el pabellón auditivo, el producto debe cumplir los requisitos siguientes:

Debe tener la misma forma anatómica que la parte a reconstruir, y tener el tamaño correcto para el paciente.

Debe poseer una superficie en la cual puedan multiplicarse las células adaptándose a la forma de la prótesis.

Debe ser biodegradable y al mismo tiempo garantizar que no se altera la estructura del soporte por más tiempo que se requiera para que se forme el nuevo tejido.

ES 2 329 430 T3

Para producir a nivel industrial prótesis con una forma compleja constituidas por al menos un derivado del ácido hialurónico, que no se degraden rápidamente al entrar en contacto con los fluidos corporales o en soluciones celulares y que cumplan los requisitos previamente mencionados, ha sido necesario diseñar un proceso de trabajo innovador mediante el cual se establecen interacciones físico-químicas entre las moléculas de derivado del ácido hialurónico, de manera que la prótesis queda firmemente fijada en la forma deseada.

En particular, cuando la matriz A es A1 y dicha matriz incorpora la matriz B, el proceso de la presente invención comprende las etapas siguientes:

- a) revestir un molde con una capa de tejido no tejido que comprende un derivado del ácido hialurónico.
- b) impregnar dicho tejido no tejido en el molde con una solución acuosa de una sal de amonio cuaternario de ácido hialurónico o con un derivado de ácido hialurónico tal como ácido hialurónico O-sulfatado o N-sulfatado, hemi-ésteres del ácido hialurónico con ácido succínico y opcionalmente sus sales con metales pesados.
- c) liofilizar el contenido del molde obteniendo de este modo una prótesis que contiene la matriz A1 que incorpora la matriz B formada por sales de amonio, por ejemplo, sal de tetrabutilamonio del ácido hialurónico o sal de feniltrimetilamonio del ácido hialurónico, o de un derivado del ácido hialurónico tal como el ácido hialurónico O-sulfatado o el ácido hialurónico N-sulfatado, los hemi-ésteres del ácido hialurónico con ácido succínico y opcionalmente sus sales con metales pesados.
- d) opcionalmente, convertir la sal de amonio contenida en la prótesis proveniente de la etapa (c) en un derivado del ácido hialurónico seleccionado del grupo formado por ésteres parciales o totales del ácido hialurónico con alcoholes de las series alifática, aromática, arilalifática, cicloalifática o heterocíclica, ésteres reticulados del ácido hialurónico en los que una parte o todos los grupos carboxi se encuentran esterificados con funciones alcohol de la misma u otra cadena polisacárida u otras cadenas, derivados reticulados del ácido hialurónico en los que una parte o todos los grupos carboxi se encuentran esterificados con polialcoholes de las series alifática, aromática, arilalifática, cicloalifática o heterocíclica, en los que la reticulación se genera mediante cadenas separadoras, hemi-ésteres del ácido succínico o sales de metales pesados de hemi-ésteres del ácido succínico con ésteres totales o parciales del ácido hialurónico y ésteres totales o parciales N-sulfatados u O-sulfatados del ácido hialurónico.
- e) opcionalmente, liofilizar el producto procedente de (d).

Cuando la matriz A es A2 o el producto obtenido de las etapas c o d definidas en el proceso precedente y se adhiere a la matriz C, el proceso comprende las etapas siguientes:

- a') aplicar una capa fina de una solución acuosa de una sal de amonio cuaternario de ácido hialurónico o de un derivado seleccionado entre ácido hialurónico O-sulfatado (WO 95/25751) o ácido hialurónico N-sulfatado (PCT/EP98/01973), hemi-ésteres del ácido hialurónico con ácido succínico y opcionalmente sus sales con metales pesados (WO96/357207) a una sal de amonio cuaternario idéntica o diferente liofilizada;
- b') adherir a la mezcla procedente de la etapa (a') una capa de tejido no tejido que comprende un derivado del ácido hialurónico;
- c') liofilizar la mezcla procedente de la etapa (b'), obteniendo de este modo una prótesis en la que la matriz A es A2 y está formada por una sal de amonio tal como una sal de amonio cuaternario de ácido hialurónico o de un derivado del mismo que aún no ha sido esterificado, tal como ácido hialurónico O-sulfatado (WO 95/25751) o ácido hialurónico N-sulfatado (PCT/EP98/01973), los hemi-ésteres del ácido hialurónico con ácido succínico y opcionalmente sus sales con metales pesados (WO96/357207) adherida a la matriz C.
- d') opcionalmente convertir la sal de amonio contenida en la prótesis procedente de la etapa (c') con un derivado del ácido hialurónico seleccionado entre ésteres totales o parciales del ácido hialurónico con alcoholes de las series alifática, aromática, arilalifática, cicloalifática o heterocíclica, ésteres reticulados del ácido hialurónico en los que una parte o todos los grupos carboxi se encuentran esterificados con funciones alcohol de la misma o diferente cadena polisacárida u otras cadenas, derivados reticulados del ácido hialurónico, en los que una parte o todos los grupos carboxi se encuentran esterificados con polialcoholes de la serie alifática, aromática, arilalifática, cicloalifática o heterocíclica en los que se genera la reticulación mediante cadenas separadoras, hemi-ésteres del ácido succínico o sales de metales pesados de hemi-ésteres del ácido succínico con ésteres totales o parciales del ácido hialurónico y ésteres parciales o totales del ácido hialurónico N-sulfatado u O-sulfatado;
- e') opcionalmente liofilizar el producto procedente del (d'); y

ES 2 329 430 T3

Cuando la matriz (A) es (A2) o el producto obtenido en las etapas c o d anteriormente definidas procedente del primer proceso y se encuentra adherida a la matriz (C), el proceso comprende las etapas siguientes:

- a'') aplicar una capa fina de una solución de un derivado del ácido hialurónico en un solvente acuoso u orgánico adecuado, tal como DMSO, seleccionándose dicho derivado del ácido hialurónico entre ésteres totales o parciales del ácido hialurónico con alcoholes de las series alifática, aromática, arilalifática, cicloalifática o heterocíclica, ésteres reticulados del ácido hialurónico en los que una parte o todos los grupos carboxi se encuentran esterificados con funciones alcohol de la misma o diferente cadena polisacárida u otras cadenas, derivados reticulados del ácido hialurónico, en los que una parte o todos los grupos carboxi se encuentran esterificados con polialcoholes de la serie alifática, aromática, arilalifática, cicloalifática o heterocíclica en los que se genera la reticulación mediante cadenas separadoras, hemi-ésteres del ácido succínico o sales de metales pesados de hemi-ésteres del ácido succínico con ésteres totales o parciales del ácido hialurónico y ésteres parciales o totales del ácido hialurónico N-sulfatado u O-sulfatado;
- b'') aplicar un tejido no tejido que comprende un derivado del ácido hialurónico para liofilizar el producto procedente de la etapa (a'');
- c'') liofilizar el producto procedente de la etapa (b'').

En el caso de que la prótesis, de acuerdo con la presente invención, contiene al menos una matriz porosa formada por un derivado del ácido hialurónico, el proceso comprende las etapas siguientes:

- a''') verter una solución acuosa de una sal de amonio cuaternario de ácido hialurónico o de un derivado seleccionado entre ácido hialurónico O-sulfatado, ácido hialurónico N-sulfatado y hemi-ésteres del ácido hialurónico con ácido succínico y opcionalmente sus sales con metales pesados en un molde que posee la forma de la parte corporal a reconstruir;
- b''') liofilizar la solución acuosa en el molde;
- c''') desprender el producto liofilizado del molde y convertir las sales de amonio cuaternario liofilizadas en al menos un derivado del ácido hialurónico seleccionado entre ésteres totales o parciales del ácido hialurónico con alcoholes de las series alifática, aromática, arilalifática, cicloalifática o heterocíclica, ésteres reticulados del ácido hialurónico en los que una parte o todos los grupos carboxi se encuentran esterificados con funciones alcohol de la misma o diferente cadena polisacárida u otras cadenas, derivados reticulados del ácido hialurónico, en los que una parte o todos los grupos carboxi se encuentran esterificados con polialcoholes de la serie alifática, aromática, arilalifática, cicloalifática o heterocíclica en los que se genera la reticulación mediante cadenas separadoras, hemi-ésteres del ácido succínico o sales de metales pesados de hemi-ésteres del ácido succínico con ésteres totales o parciales del ácido hialurónico y ésteres parciales o totales del ácido hialurónico N-sulfatado u O-sulfatado;
- d''') liofilizar el producto procedente de la etapa precedente en el molde.

Ejemplo 1

Preparación de sal de feniltrimetilamonio del ácido hialurónico

Se solubilizan 69 gramos de hialuronato sódico en 4 L de agua y se pasan a través de una columna cargada previamente con Dowex Resin M15 en forma de tetrabutilamonio. Se liofiliza tras la obtención de 100 g. de sal de tetrabutilamonio del ácido hialurónico.

Se solubilizan 150 gramos de sal de tetrabutilamonio del ácido hialurónico (HA-TBA) y 225 g. de cloruro de feniltrimetilamonio en una mezcla formada por 2 L de agua y 3 L de acetona (mezcla 40/60).

Se añaden quince litros de acetona y se obtiene un precipitado de sal de feniltrimetilamonio del ácido hialurónico.

Se lava el precipitado varias veces con acetona y se seca a una temperatura de aproximadamente 35°C durante 72 horas (rendimiento: 125 g).

Ejemplo 2

Preparación de una prótesis para la reconstrucción del pabellón auditivo constituida por el éster de bencilo total del ácido hialurónico (HYAFF®11)

Se prepara un molde hueco con la forma del pabellón auditivo, realizado con polímeros del tipo utilizado en odontología. La forma de la oreja que falta se reconstruye mediante un sistema informático que utiliza una imagen especular de la otra oreja.

ES 2 329 430 T3

Se reviste el molde con una capa de HYAFF®11 en forma de tejido no tejido, ajustándola detenidamente a la forma del molde.

Se impregna el tejido no tejido con 15 mL de una solución acuosa de sal de ácido hialurónico con fenitrimetilamonio a una concentración de 70 mg/mL y se liofiliza.

El producto intermedio sólido en forma de pabellón auditivo, constituido por la sal de ácido hialurónico con fenitrimetilamonio, que contiene el tejido HYAFF®11 no tejido, se retira del molde y se expone a una reacción de esterificación en la fase heterogénea.

Se coloca el material en 0,3 litros de acetona por gramo de producto intermedio, y continuación se añaden 4 gramos de bromuro de tetrabutilamonio y 3 mL de bromuro de bencilo. La mezcla se mantiene en el punto de ebullición durante 12 horas.

Se lava repetidamente el producto con una solución de etanol y agua en una relación de 1:1 y que contiene un 3% de cloruro sódico, tras lo cual se lava con agua.

Finalmente, el producto de vuelve a poner en el molde y se liofiliza.

Ejemplo 3

Preparación de una prótesis para la reconstrucción del pabellón auditivo constituida por el éster de bencilo total del ácido hialurónico (HYAFF®11)

Se prepara un molde hueco con la forma del pabellón auditivo, realizado con polímeros del tipo utilizado en odontología. La forma de la oreja que falta se reconstruye mediante un sistema informático que utiliza una imagen especular de la otra oreja.

Se reviste el molde con una capa de HYAFF®11 en forma de tejido no tejido, ajustándola detenidamente a la forma del molde.

Se impregna el tejido no tejido con 15 mL de una solución acuosa de sal de ácido hialurónico con tetrabutilamonio a una concentración de 70 mg/mL y se liofiliza.

El producto intermedio sólido en forma de pabellón auditivo, constituido por la sal de ácido hialurónico con tetrabutilamonio, que contiene el tejido HYAFF®11 no tejido, se retira del molde y se expone a una reacción de esterificación en la fase heterogénea.

Se coloca el material en 0,06 litros de acetona por gramo de producto intermedio, y a continuación se añaden 4,2 gramos de bromuro de tetrabutilamonio y 1,4 mL de bromuro de bencilo.

La mezcla se mantiene en el punto de ebullición durante 12 horas.

Se lava repetidamente el producto con una solución de etanol y agua en una relación 1:1 que contiene un 3% de cloruro sódico, tras lo cual se lava con agua.

Finalmente, el producto se vuelve a poner en el molde y se liofiliza.

Ejemplo 4

Reparación de una prótesis para la reconstrucción del pabellón auditivo constituida por el éster de dodecilo total del ácido hialurónico (HYAFF®11)

Se prepara un molde hueco con la forma del pabellón auditivo, realizado con polímeros del tipo utilizado en odontología. La forma de la oreja que falta se reconstruye mediante un sistema informático que utiliza una imagen especular de la otra oreja.

Se reviste el molde con una capa de HYAFF®11 en forma de tejido no tejido, ajustándola detenidamente a la forma del molde.

Se impregna el tejido no tejido con 15 mL de una solución acuosa de sal de ácido hialurónico con tetrabutilamonio a una concentración de 70 mg/mL y se liofiliza.

El producto intermedio sólido en forma de pabellón auditivo, constituido por la sal de ácido hialurónico con tetrabutilamonio, que contiene el tejido HYAFF®11 no tejido, se retira del molde y se expone a una reacción de esterificación en la fase heterogénea.

ES 2 329 430 T3

Se coloca el material en 0,06 litros de acetona por gramo de producto intermedio, y a continuación se añaden 4,2 gramos de bromuro de tetrabutylamonio y 1,4 mL de bromuro de dodecilo.

La mezcla se mantiene en el punto de ebullición durante 12 horas.

Se lava repetidamente el producto con una solución de etanol y agua en una relación 1:1 que contiene un 3% de cloruro sódico, tras lo cual se lava con agua.

Finalmente, el producto se vuelve a poner en el molde y se liofiliza.

Ejemplo 5

Preparación de una prótesis para la reconstrucción del pabellón auditivo constituida por el éster de bencilo total del ácido hialurónico (HYAFF®11) en forma de tejido no tejido incorporado en ácido hialurónico autoreticulado

Se prepara un molde hueco con la forma del pabellón auditivo, realizado con polímeros del tipo utilizado en odontología. La forma de la oreja que falta se reconstruye mediante un sistema informático que utiliza una imagen especular de la otra oreja.

Se reviste el molde con una capa de HYAFF®11 en forma de tejido no tejido, ajustándola detenidamente a la forma del molde.

Se impregna el tejido no tejido con 15 mL de una solución acuosa de sal de ácido hialurónico con tetrabutylamonio a una concentración de 70 mg/mL y se liofiliza.

El producto intermedio sólido en forma de pabellón auditivo, constituido por la sal de ácido hialurónico con tetrabutylamonio, que contiene el tejido HYAFF®11 no tejido, se retira del molde y se expone a una reacción de esterificación en la fase heterogénea.

Se coloca el material en 1,5 litros de acetona por 10 gramos de producto intermedio, y a continuación se añaden 70 gramos de tamiz molecular y 10 g. de yoduro de 2-cloro-1-metil piridinio.

La mezcla se mantiene en el punto de ebullición durante 8 horas.

La mezcla se lava primero con acetona y a continuación con una solución acuosa que contiene un 3% de cloruro sódico y finalmente con agua.

Ejemplo 6

Preparación de una prótesis tridimensional constituida por éster de bencilo total de ácido hialurónico (HYAFF®11) con una capa de tejido no tejido (HYAFF®11) adherida a su superficie

Método 1

Adhesión de una capa de tejido no tejido (HYAFF®11) al producto antes de la esterificación

Se aplica una capa fina de una solución de sal del ácido hialurónico con tetrabutylamonio en agua a una concentración de aproximadamente 70 mg/mL sobre la superficie de un producto liofilizado constituido por sal del ácido hialurónico con tetrabutylamonio o con feniltrimetilamonio, a continuación, se aplica una capa de tejido no tejido (HYAFF®11). Se recoloca el producto en el molde, se lleva a una temperatura de -40°C y se liofiliza. A continuación se expone el producto a una reacción de esterificación como en los ejemplos anteriores.

Método 1A

Se repite el mismo método con los mismos ingredientes descrito en el Método 1 sin añadir la capa de tejido no tejido.

Método 2

Adhesión de una capa de tejido no tejido (HYAFF®11) al producto esterificado

Se aplica una capa fina de una solución de HYAFF®11 en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de aproximadamente 180 mg/mL a la superficie del producto constituido por HYAFF®11, tras lo cual se aplica una capa de tejido no tejido (HYAFF®11). A continuación se sumerge el producto en alcohol etílico durante al menos 30 minutos. A continuación se lava repetidamente con etanol y a continuación con agua. Se coloca el producto en el molde y se liofiliza.

ES 2 329 430 T3

Cultivo celular de una prótesis para el pabellón auditivo

Se toma una biopsia de cartílago nasal mediante procedimientos estándar.

- 5 Se desintegra la muestra de cartílago mediante digestión enzimática con tripsina al 0,25% y EDTA al 0,02%, y se incuba a 37°C con dióxido de carbono al 5% durante 15 minutos, realizándose a continuación una segunda sesión de digestión enzimática con una solución de colagenasa al 0,1%.

- 10 Se agita la muestra y se incuba durante aproximadamente 16 horas a 37°C.

A continuación, se separa cualquier posible fragmento de tejido residual mediante centrifugación y se retira el sobrenadante.

- 15 La reacción enzimática se interrumpe añadiendo medio de cultivo enriquecido con suero bovino fetal (FBS) al 10% o medio esencial mínimo de Dulbecco (DMEM) enriquecido con FBS al 10%.

Se resuspenden aproximadamente 1×10^6 células/cm² en un medio de cultivo con factores de crecimiento y se siembran en el biomaterial en una placa de 100 mm de diámetro.

- 20 Tras tres horas de incubación a 37°C, se añaden 10 mL de medio de cultivo con factores de crecimiento. Se incuba el cultivo y se añade medio de cultivo fresco a las 48 horas después de la siembra y a continuación cada 48-72 horas.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Prótesis tridimensional con la forma de una parte del cuerpo seleccionada entre pabellón auditivo, nariz, tabique nasal, faringe, laringe, tráquea, articulaciones, estructuras óseas, órbita ocular, válvulas cardíacas, vasos sanguíneos, pezones, ombligo, órganos internos y sus partes y órganos sexuales secundarios, comprendiendo dicha prótesis tridimensional al menos una matriz tridimensional que posee una estructura porosa y que contiene al menos un derivado del ácido hialurónico, cuando dicha prótesis contiene al menos dos de dichas matrices tridimensionales, la primera de dichas matrices tridimensionales incorpora y/o está adherida a la segunda y a otras matrices adicionales posibles que poseen una estructura fibrosa o porosa, incorporando y/o estando adheridas dichas matrices tridimensionales opcionalmente a una matriz perforada bidimensional que contiene un derivado del ácido hialurónico, comprendiendo además dicha prótesis tridimensional células seleccionadas del grupo formado por células mesenquimales o maduras autólogas o endógenas, o sistemas complejos de células mesenquimales y diferentes tipos de células maduras; seleccionándose dicho derivado del ácido hialurónico entre:

- ésteres del ácido hialurónico en los que una parte o todas las funciones carboxi se encuentran esterificadas con alcoholes de las series alifática, aromática, arilalifática, cicloalifática o heterocíclica;
- ésteres reticulados del ácido hialurónico en los que una parte o todos los grupos carboxi se encuentran esterificados con las funciones alcohólicas de la misma u otra cadena polisacárida u otras cadenas;
- hemi-ésteres del ácido succínico o sales de metales pesados del hemi-éster del ácido succínico con ésteres totales o parciales del ácido hialurónico;
- ésteres totales o parciales de derivados O-sulfatados o N-sulfatados; y
- sal de amonio cuaternario del ácido hialurónico o un derivado del ácido hialurónico seleccionado del grupo formado por ácido hialurónico N-sulfatado, ácido hialurónico O-sulfatado, hemi-ésteres del ácido succínico con ácido hialurónico y opcionalmente parcialmente salificados con metales pesados.

2. Prótesis tridimensional según la reivindicación 1, que comprende una matriz (A) seleccionada del grupo formado por:

- (A1) matriz tridimensional que posee una estructura fibrosa;
- (A2) matriz tridimensional que posee una estructura fibrosa;
- (A3) matriz perforada bidimensional, y una segunda matriz (B), (C) o (D), incorporada o adherida a la matriz (A), en la que:
 - en el caso en que (A) es (A1) o (A3), la segunda matriz es
- (B) una matriz tridimensional que posee una estructura porosa; y
 - en el caso de que (a) es (A2), la segunda matriz es
- (C) una matriz tridimensional que posee una estructura fibrosa; o
- (D) una matriz perforada bidimensional; comprendiendo al menos dicha matriz (A) y dicha segunda matriz (B), (C) y (D) al menos un derivado del ácido hialurónico.

3. Prótesis tridimensional, según las reivindicaciones 1 a 2, que comprende además polímeros naturales, semisintético y sintéticos.

4. Prótesis tridimensional, según la reivindicación 3, en la que los polímeros naturales se seleccionan del grupo formado por colágeno, coprecipitados de colágeno y glicosaminoglicanos, celulosa, polisacáridos en forma de geles tales como quitina, quitosano, pectina o ácido péctico, agar, agarosa, xantano, gelano, ácido algínico o alginatos, polimanano o poliglicanos, almidón y gomas naturales.

5. Prótesis tridimensional, según la reivindicación 3, en la que los polímeros semisintéticos se seleccionan del grupo formado por colágeno reticulado con agentes tales como aldehídos o precursores de los mismos, ácido dicarboxílico, o halogenuros de los mismos, diaminas, derivados de celulosa, quitina o quitosano, gelano, xantano, pectina o ácido péctico, poliglicanos, polimanano, agar, agarosa, goma natural y glicosaminoglicanos.

6. Prótesis tridimensional, según la reivindicación 3, en la que los polímeros sintéticos se seleccionan del grupo formado por ácido poliláctico, ácido poliglicólico, o copolímeros de los mismos o sus derivados, polidioxanos, polifosfacenos, resinas polisulfónicas, poliuretanos y PTFE.

ES 2 329 430 T3

7. Prótesis tridimensional, según las reivindicaciones 1 a 6, en la que al menos una de dichas matrices (A), (B), (C) y (D) está formada por al menos un derivado del ácido hialurónico.

5 8. Prótesis tridimensional, según la reivindicación 2, en la que dichas matrices A1 y C se seleccionan del grupo formado por mallas y tejido no tejido.

9. Prótesis tridimensional, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que las matrices (A2) y (B) se obtienen mediante un proceso de liofilización.

10 10. Prótesis tridimensional, según la reivindicación 1, en la que dicha matriz perforada bidimensional se obtiene por la perforación de una membrana bidimensional que posee una estructura continua.

11. Prótesis tridimensional, según la reivindicación 1, en la que dichos ésteres del ácido hialurónico son ésteres bencilo.

15 12. Prótesis tridimensional, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en asociación con sustancias farmacéutica o biológicamente activas.

20 13. Prótesis tridimensional, según la reivindicación 12, en la que las sustancias farmacéutica o biológicamente activas se seleccionan del grupo formado por agentes antiinflamatorios, antibióticos, factores de crecimiento, antimicrobianos y agentes antivirales.

25 14. Prótesis tridimensional, según la reivindicación 1, en la que, para la reconstrucción de una parte del cuerpo humano o de animales seleccionada del grupo formado por pabellón auditivo, nariz, tabique nasal, faringe, laringe, tráquea, articulaciones, estructuras óseas, órbita ocular, válvulas cardíacas, vasos sanguíneos, pezones, ombligo, órganos internos y sus partes y órganos sexuales secundarios.

30 15. Prótesis tridimensional, según las reivindicaciones 1 o 14, en la que dicha parte del cuerpo es el pabellón auditivo.

16. Prótesis tridimensional, según las reivindicaciones 1 o 14, en la que dicha parte del cuerpo son los nudillos o la articulación temporomandibular.

35 17. Prótesis tridimensional, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, para su utilización en cirugía general, interna, otorrinolaringológica, plástica, estética, oncológica, ortopédica, cardiovascular, ginecológica, y abdominal y neurocirugía.

40 18. Proceso para la preparación de una prótesis tridimensional, según la reivindicación 2, en el que la matriz A es A1 y dicha matriz incorpora la matriz B, que comprende las etapas siguientes:

- a) revestir un molde con una capa de tejido no tejido que comprende un derivado del ácido hialurónico;
- b) impregnar dicho tejido no tejido en el molde con una solución acuosa de una sal de amonio cuaternario del ácido hialurónico o un derivado del ácido hialurónico, tal como se define en la reivindicación 1;
- 45 -c) liofilizar el contenido del molde obteniendo de este modo una prótesis que posee la matriz A1 que incorpora la matriz B formada por las sales de amonio definidas en la reivindicación 1;
- 50 -d) opcionalmente convertir la sal de amonio contenida en la prótesis proveniente de la etapa (c) en un derivado del ácido hialurónico seleccionado de los definidos en la reivindicación 1;
- e) liofilizar el producto proveniente de (d).

55 19. Proceso para la preparación de una prótesis tridimensional, según la reivindicación 2, en el que la matriz A es A2 o es el producto de las etapas (c) o (d) del proceso, según la reivindicación 18, y que se adhiere a la matriz C, que comprende las etapas siguientes:

- 60 -a') aplicar una capa fina de una solución acuosa de una sal de amonio cuaternario, tal como se define en la reivindicación 1, a la misma u otra sal diferente de amonio cuaternario liofilizada, tal como se define en la reivindicación 1;
- b') adherir a la mezcla proveniente de la etapa (a') una capa de tejido no tejido que comprende un derivado del ácido hialurónico;
- 65 -c') liofilizar la mezcla proveniente de la etapa (b') obteniendo de este modo una prótesis en la que la matriz A es A2 y está formado por una sal de amonio cuaternario, tal como se define en la reivindicación 1, que tiene adherida a la matriz C;

ES 2 329 430 T3

- d') opcionalmente convertir la sal de amonio contenida en la prótesis proveniente de la etapa (c') en un derivado del ácido hialurónico seleccionado de los definidos en la reivindicación 1;
- e') liofilizar el producto proveniente de la etapa (d').

5

20. Proceso para la preparación de una prótesis tridimensional según la reivindicación 2, en el que la matriz A es A2 o es el producto de las etapas (c) o (d) del proceso, según la reivindicación 18, y está adherida a la matriz C, que comprende las etapas siguientes:

10

- a'') aplicar una capa fina de una solución de un derivado del ácido hialurónico en una solución acuosa o en un solvente orgánico adecuado, seleccionándose dicho derivado del ácido hialurónico de los definidos en la reivindicación 1;
- b'') aplicar al producto liofilizado proveniente de la etapa (a'') un tejido no tejido que comprende un derivado del ácido hialurónico;
- c'') liofilizar el producto proveniente de la etapa (b'').

20

21. Proceso para la preparación de una prótesis tridimensional, según la reivindicación 1, que contiene al menos una matriz porosa formada por un derivado del ácido hialurónico, que comprende las etapas siguientes:

25

- a''') verter una solución acuosa de una sal de amonio cuaternario, tal como se define en la reivindicación 1, en un molde que posee la forma de la parte corporal a reconstruir,
- b''') liofilizar la solución acuosa en el molde,
- c''') desprender el producto liofilizado del molde y convertir las sales de amonio liofilizadas en al menos un derivado del ácido hialurónico seleccionado entre los definidos en la reivindicación 1,
- d''') liofilizar el producto, proveniente de la etapa anterior, en el molde.

35

40

45

50

55

60

65