ÖZET
DERMAL ENJEKTE EDİLEBİLİR STERİL BİLEŞİM

Mevcut buluş, çapraz bağlama maddesi olarak en az bir etkili miktarda en az bir endojen poliamin varlığında hiyalüronik asit veya tuzlarından birinin çapraz bağlanmasından elde edilen bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jel ile ilgilidir, söz konusu çapraz bağlanma, söz konusu hiyalüronik asit ve söz konusu endojen poliaminin birleştirilmesine yardımcı olan koşullar altında gerçekleştirilir.

İSTEMLER

1. Çapraz bağlanma maddesi olarak en az etkili bir miktarda en az bir endojen poliaminin mevcudiyetinde, hiyalüronik asit veya bunun bir tuzunun çapraz bağlanmasından türetilen çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli olup, özelliği söz konusu çapraz bağlamanın, söz konusu hiyalüronik asit ve söz konusu endojen poliamin(ler)in kovalent birleşmesine uygun koşullar altında gerçekleştirilmesidir, söz konusu jelin %1'den daha az veya buna eşit bir modifikasyon derecesi vardır, modifikasyon derecesi, hiyalüronik aside yapışan endojen poliaminin mollerinin sayısı ile söz konusu çapraz bağlanmış jeli oluşturan hiyalüronik asidin mol sayısı arasındaki orandır.

2. İstem 1'e göre jel olup, özelliği endojen poliaminin, spermidin, spermin ve bunların bir karışımından ve tercihen sperminden seçilmesidir.

3. Yukarıdaki istemlerden herhangi birine göre bir jel olup, özelliği birleşmenin en az bir aktivatör mevcudiyetinde gerçekleştirilmesi ve uygun olduğunda, en az bir yardımcı birleştirme maddesi ile birleştirilmesidir, söz konusu aktivatör, örneğin 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid (EDC), 1-etil-3-(3-trimetilaminopropil)karbodiimid (ETC), 1-sikloheksil-3-(2-morfolinoetil)karbodiimid (CMC) gibi ve ayrıca bunların tuzları ve bunların karışımları gibi tercihen suda çözünür karbondiimidlerden seçilir ve özellikle EDC ile temsil edilir ve söz konusu yardımcı birleştirme maddesi, mevcut olduğunda, tercihen N-hidroksisüksinimit (NHS), N-hidroksibenzotriazol (HOBt), 3,4-dihidro-3-hidroksi-4-okso-1,2,3-benzotriazol (HOOBt), 1-hidroksi-7-azabenzotriazol (HAt) ve N-hidroksisülfosüksinimid (sülfo NHS) ve bunların karışımları arasından seçilir ve özellikle HOBt ile temsil edilir.

4. Yukarıdaki istemlerden herhangi birine göre bir jel olup, özelliği söz konusu jelin, %0.1 ila %1 arasında ve tercihen %0.4 ila %0.8 arasında bir modifikasyon derecesine sahip olmasıdır.

5. Yukarıdaki istemlerden herhangi birine göre bir jel olup, özelliği söz konusu jelin, 45°C'den daha düşük bir faz açısı (δ) ile birleştirilmiş, 20 ila 1000 Pa

arasında, tercihen 40 Pa ila 400 Pa arasında bir elastisite modülüne (G') sahip olmasıdır.

6. Yukarıdaki istemlerden herhangi birine göre bir jel olup, burada söz konusu jel, 100 Pa'dan daha büyük bir çapraz stres taramaya sahiptir.

7. İstemler 1 ila 6'dan herhangi birine göre tanımlanan çapraz bağlanmış bir hiyalüronik asit jeli hazırlama prosesi olup, özelliği en azından aşağıdaki adımları içermesidir:
a) çapraz bağlanmamış durumda bir hiyalüronik asit veya bunun bir tuzunun sulu jelinin sağlanması,
b) a) adımında elde edilen jelin etkili bir miktarda en az bir endojen poliamin ile ve isteğe bağlı olarak ek bir çapraz bağlanma maddesinin varlığında temasının sağlanması,
c) b) adımında oluşturulan söz konusu karışımın çapraz bağlanması, söz konusu çapraz bağlanma, söz konusu hiyalüronik asidin ve söz konusu endojen poliamin(ler)in kovalent birleşmesi için elverişli koşullar altında gerçekleştirilir,
d) söz konusu çapraz bağlanmış hidrojelin geri kazanılması ve isteğe bağlı olarak
e) çapraz bağlanmanın, çapraz bağlanmış jelin, çapraz bağlanmasının durdurulmasına elverişli koşullara maruz bırakılması ile durdurulması, bu isteğe bağlı adım e), geri kazanım adımından d) önce, birlikte veya sonrası gerçekleştirilir.

8. İstem 7'ye göre bir proses olup, özelliği endojen poliamin(ler)in, spermidin, spermin ve bunların bir karışımından ve tercihen sperminden seçilmesidir.

9. İstem 7 ve 8'den herhangi birine göre bir proses olup, özelliği endojen poliamin(ler)in, b) adımındaki karışımda mevcut olan hiyalüronik asit mol sayısına göre poliamin(ler) mol sayısı olarak %0.1 ila %3, tercihen %0.5 ila %1.5 arasında bir miktarda kullanılmasıdır.

10. İstemler 7 ila 9'dan herhangi birine göre bir proses olup, özelliği hiyalüronik asit veya bunun bir tuzunun, b) adımının sonunda elde edilen karışımın toplam ağırlığına göre ağırlık olarak %0.5 ila %12, tercihen ağırlık olarak %1 ila %4 arasında bir miktarda kullanılmasıdır.

11. İstemler 7 ila 10'dan herhangi birine göre bir proses olup, özelliği (i) sodyum hiyalüronat, (ii) çapraz bağlama maddesi olarak spermin ve (iii) sırasıyla aktivatör ve yardımcı birleştirme maddesi olarak EDC ile kombinasyon halinde HOBt kullanmasıdır.

12. Steril enjekte edilebilir dermatolojik bileşim olup, özelliği fizyolojik olarak kabul edilebilir bir ortamda istemler 1 ila 6'dan herhangi birine göre tanımlanan en az bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli içermesidir.

13. Kozmetik veya dermatolojik bileşim olup, özelliği istemler 1 ila 6'dan herhangi birine göre tanımlanan en az bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli içermesidir.

14. Kit olup özelliği aşağıdaki unsurları içermesidir:

- istemler 1 ila 6'dan herhangi birine göre tanımlanan en az bir doz çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jel veya İstem 12'de tanımlanan bir bileşim içeren bir ambalaj; ve
- söz konusu dozun uygulanması amacıyla cildin içine veya cilt boyunca enjeksiyon yapmaya yönelik bir cihaz veya cildin mikroperforasyonu için bir cihaz.

15. İstemler 1 ila 6'dan herhangi birine göre tanımlanan bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jel veya İstem 12'de tanımlanan bir bileşimin, cilt hacim kusurlarını doldurmak ve özellikle de kırışıklıkları doldurmak için kullanımıdır.

16. Bir kozmetik cilt bakım prosesi olup, özelliği cildin içinde veya cilt boyunca İstemler 1 ila 6'dan herhangi birine göre tanımlanan bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jel veya İstem 12'de tanımlanan bir bileşimin uygulanmasına yönelik en az bir adımı içermesidir.

TARİFNAME
DERMAL ENJEKTE EDİLEBİLİR STERİL BİLEŞİM

Mevcut buluş, hiyalüronik aside veya bunun bir tuzuna dayanan ve cilt kusurları ve hatalarının tedavisi için tasarlanan steril enjekte edilebilir bileşimlerin alanı ile ilgilidir.

Deride doğal olarak bulunan hiyalüronik asit, viskoelastik özellikleri ve ayrıca su absobsiyon eğiliminin yüksek olması ile bilinmektedir. Özellikleri cildin esnekliğine büyük ölçüde katkıda bulunur.

Özellikleri ve biyouyumluluk, tolerans ve toksisite olmaması özellikleri göz önüne alındığında, bu bileşikten tıbbi ve kozmetik alanlarındaki birçok uygulamada ve özellikle estetik prosedürlerde 10 yıldan fazla bir süredir avantaj sağlanmıştır.

Bu nedenle, hiyalüronik asit, kırışıklıkları doldurmak ve kırışıklık veya cilt depresyonu ile temsil edilen dermis yapısının, genellikle dermise doğrudan bir enjeksiyon *yoluyla*, söz konusu alanda lokal zayıflamayı azaltmak, hatta ortadan kaldırmak için kullanılır.

Modifiye edilmemiş hiyalüronik asit mükemmel biyouyumludur ve endojen hiyalüronik asit ile aynıdır.

Bununla birlikte, hiyalüronik asit esasen çapraz bağlanmış hiyalüronik asit bazlı bir jel formunda kullanılır ve bu nedenle bu özel form bozunmaya, ısınmaya ve dolayısıyla sterilizasyona karşı artan dirence sahip modifiye edilmiş bir formdadır.

Bu çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jelleri, çeşitli preparasyon prosesleriyle elde edilebilir. Genel olarak, bu prosesler, iki temel adım gerektirir, birincisi, bunu sulu bir jele dönüştürmek amacıyla hiyalüronik asidin hidratlanmasını içerir ve ikincisi, söz konusu çapraz bağlanmayı indükleyebilen bir maddenin varlığında çapraz bağlanmasını amaçlar (ayrıca, "çapraz bağlanma maddesi" olarak anılır). Bu madde genellikle epoksit, aldehit, poliaziridil veya divinilsülfon (DVS) veya bütandiol diglisidil eterden (BDDE) seçilir ve bu nedenle doğada sentetiktir.

Bu proseslerin gösterimi yoluyla, özellikle US 2006/0105022, WO 2006/056204 ve US 2007/0036745 sayılı belgelerde açıklananlardan söz edilebilir.

Hali hazırda piyasada bulunan ve geleneksel çapraz bağlanma maddeleriyle elde edilen çapraz bağlanmış jeller genellikle %4'ten daha büyük modifikasyon derecelerine veya hatta %10'a kadar modifikasyon derecelerine sahiptir.

Mevcut buluşun amaçları doğrultusunda, " modifikasyon derecesi" teriminin, hiyalüronik aside bağlı çapraz bağlanma maddesinin mol sayısı ile söz konusu çapraz bağlanmış jeli oluşturan hiyalüronik asit mol sayısı arasındaki oranı belirtmesi amaçlanmaktadır. Bu miktar özellikle çapraz bağlanmış jelin 1D ^{1}H NMR analizi ile ölçülebilir.

"Hiyalüronik asit mol sayısı" ifadesinin, hiyalüronik asidin tekrarlayan disakarit birimlerinin mol sayısını ifade etmesi amaçlanmaktadır; disakarit birimi, alternatif olarak beta-1,4 ve beta-1,3 glikosidik bağlarıyla birbirine bağlanmış D-glukuronik asit ve DN-asetilglukosaminden oluşur.

Bununla birlikte, endojen hiyalüronik aside olabildiğince yaklaşılması amacıyla, daha düşük bir modifikasyon derecesine sahip çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jellerinin bulunması arzu edilecektir.

Kuşkusuz, daha düşük modifikasyon derecelerine sahip (diğer bir deyişle, %1 ile %2 arasında) çapraz bağlanmış jeller daha önce önerilmiştir. Ne yazık ki, yapışkanlıkların zayıf olduğu ve ezilme direnci düşük olduğu kanıtlanmıştır. Bu eksiklikler kendilerini özellikle salınımlı reolojide stres taraması ile bir ölçüm sırasında sınırlı bir viskoelastisite aralığı (viskoelastisite aralığı, G' in sabit kaldığı stres aralığı ile temsil edilir) ile gösterir. Bu viskoelastisite aralığının kapsamı, özellikle çapraz geçiş stresinin ölçülmesi (diğer bir deyişle G' değerinin düşeceği ve G" değerine eşit olduğu stres) ile değerlendirilebilir.

Bu nedenle, bu davranış, kırışıklıkları dolduran uygulamalar için geliştirilmelidir.

Daha spesifik olarak, mümkün olan en düşük modifikasyon derecelerine sahip çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jellerine ihtiyaç duyulmaya devam edilmektedir; bu, aynı zamanda sergilenen mekanik özellikler açısından tatmin edicidir.

Bütün beklentilere karşı, buluş sahipleri, çapraz bağlanma basamağı, spesifik bir bileşik tipi varlığında gerçekleştirildiğinde böyle bir jelin elde edilebileceğini belirtmişlerdir.

Bu nedenle, buluşun bir birinci yönüne göre, buluşun konusu, çapraz bağlanma maddesi olarak en az bir etkili bir miktarda en az bir endojen poliamin varlığında, hiyalüronik asit veya bunun bir tuzunun çapraz bağlanmasından türetilen çapraz bağlanmış bir hiyalüronik asit jeldir, söz konusu çapraz bağlanma, söz konusu hiyalüronik asidin ve söz konusu endojen poliamin(ler)in kovalent bağlanmasına elverişli koşullar altında gerçekleştirilir.

Kuşkusuz, yine de, buluşa göre düşünülenlerden farklı olan poliaminler, çapraz bağlanmış hiyalüronik asit hidrojellerinin oluşumu için önceden önerilmiştir.

Bu nedenle, Xiang Mei Yuan *et al.* (Journal of biomaterials Applications 0(0) 1-9; 27 February 2012) ve Junseok Yeom *et al.* (Bioconjugate Chem., 1991(2) 232-241) ve ayrıca WO 2012/008722 başvurusu, heksametilendiamin (HMDA) varlığında çapraz bağlanmış hiyalüronik asit (HA) hidrojellerini sağlar. Bununla birlikte, düşünülen poliamin, diğer bir deyişle heksametilendiamin (HMDA), sentetik bir diamindir ve dolayısıyla endojen bir diamin değildir. Dahası, bu önceki teknikte kullanılan çapraz bağlanma maddesi (HMDA) miktarları %25 ile %72 arasında değişmekte ve %5 ile %35 arasında çok yüksek derecede modifikasyon ile sonuçlanmaktadır.

"Çapraz bağlanma maddesi miktarı" teriminin, poliamin(ler)in mol sayısı ile jeli sentezlemek için kullanılan hiyalüronik asit mol sayısı arasındaki oranı göstermesi amaçlanmaktadır.

Son olarak, bundan sonraki örneklerden ortaya çıktığı şekilde, HA-HMDA jellerinin, mekanik özellikler açısından buluşa göre elde edilenden önemli ölçüde daha az etkili olduğunu kanıtlamıştır.

Buluşa göre düşünülen endojen poliaminler ile ilgili olarak, başvuru WO 2008/015249, kendi içinde, bunların bir yaşlanma karşıtı aktif madde olarak ve bir antioksidan olarak topikal kullanım amacıyla hiyalüronik asit parçacıklarıyla birlikte kullanmalarını önermektedir. Belirgin nedenlerden ötürü, böyle bir karışım buluşa göre düşünülen jellerden çok farklıdır.

Di Meo *et al.* (Biomacromolecules, 2006, 7: 1253-60), Ugi reaksiyonu veya başka bir hiyalüronik asit ve spermidinin yoğunlaşması yoluyla hidrojel oluşumunu açıklar. Bu

nedenle, bu buluşta düşünülenden farklı bir mekanizma içerir. Dahası, bu şekilde elde edilen ve buluşa uygun bir kullanıma tahsis edilmemiş hidrojeller, yüksek miktarlarda çapraz bağlanma maddesi (%5 ile %25 arasında) kullanan bir prosesden kaynaklanır.

Buluş sahipleri bu nedenle, endojen bir poliaminin, yukarıda belirtilen beklentilere uygun olarak çapraz bağlanmış bir hiyalüronik asit jeli elde etmek için, diğer bir deyişle genellikle göz önünde bulundurulan çapraz bağlanma maddelerine kıyasla azaltılmış bir modifikasyon derecesine ve özellikle tatmin edici olan mekanik özellikler ve sterilizasyon direncine sahip olan, tercih edilen bir çapraz bağlanma maddesi oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Aslında, buluşa göre olan çapraz bağlanmış jeller, aynı zamanda mekanik özellikler açısından tatmin edici kalırken, aynı zamanda %1'den daha az veya buna eşit derecede önemli ölçüde azaltılmış bir modifikasyon derecesine sahiptir.

Buluşa göre olan çapraz bağlanmış bir jelin ayrıca, çoğu canlı organizmada ve özellikle insanda doğal olarak bulunan bileşiklerden oluşması bakımından avantajlı olduğu da kanıtlanmıştır.

İlgili doğasının bakış açısına göre, tüketiciler tarafından bu konuda artan bir talebi karşılamaktadır.

Son olarak, buluşa göre düşünülen endojen poliaminlere özgü özelliklerin, buluşa göre elde edilen çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli içinde korunması muhtemeldir. Bu şekilde, bu özelliklerin bir antioksidan etkiye sahip olması veya yaşlanma karşıtı bir etkiye sahip olması nedeniyle, mevcut buluş bağlamında özellikle uygundur.

Mevcut buluşun başka bir yönüne göre, buluşun konusu, fizyolojik olarak kabul edilebilir bir ortamda, buluşa göre en az bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jel içeren steril enjekte edilebilir bir dermatolojik bileşimdir.

Bu buluşun amaçları doğrultusunda, "cilt" terimi, yüzün, boynun, boyun hattının, ellerin, kafa derisinin, karın ve/veya bacakların cildini kapsar, fakat ayrıca dudaklar da dahildir.

"Steril" terimi, buluşa uygun bileşimde göz önüne alınan bileşikleri ve/veya bunları içeren söz konusu bileşimi, özellikle cilt içinde veya boyunca, özellikle intraepidermal

ve/veya intradermal ve/veya subkutan uygulama için gereken zarar vermeme garanti altına alabilen bir ortamı nitelemeyi amaçlar. Özellikle, söz konusu bileşikleri içeren ve bir enjeksiyon tekniğine, örneğin mezoterapi tekniğine göre uygulanacak olan bileşimin, konakçı organizmada ters bir yan reaksiyon başlatabilen herhangi bir kirletici cisimden yoksun olması esastır.

Mevcut buluşun amaçları doğrultusunda, "enjekte edilebilir" terimi, mekanik özelliklerin, kullanım için uygun bir bileşiğin, özellikle deride buruşuklukları doldurma uygulanmasını, diğer bir deyişle cildin içine veya boyunca uygulanmasını ifade etmeyi amaçlar.

Dolayısıyla, buluşa göre olan bir bileşim ince bir hipodermik iğne (özellikle 18 G'den küçük veya 27 G'den küçük bir çapa sahip) ile enjekte edilebilir ve avantajlı bir şekilde, 20 ve 1000 Pa arasında, tercihen 40 Pa ve 400 Pa arasında, faz açısı (δ) 45°'den az bir değere sahip bir elastisite modülüne (G') sahiptir.

Bu elastisite modülü (G') ve faz açısı (δ), bundan sonra tanımlanan protokol ile ölçülür.

Mevcut buluşun başka bir yönüne göre, bunun konusu, buluşa göre en az bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli içeren bir dermatolojik veya kozmetik bileşimdir.

Uygulama yolu ile sınırlı olmayan bu uygulama, sonuç olarak adı geçen bileşimin topikal olarak uygulanmasına izin verir.

Mevcut buluşun başka bir yönüne göre, buluşun konusu, aşağıdakilerden oluşan bir kittir:

- buluşa göre olan en az bir doz çapraz hiyalüronik asit jeli veya buluşa göre olan bir bileşim içeren bir ambalaj; ve
- söz konusu dozun uygulanması için ayrılan cildin içine veya boyunca enjekte etmek için bir cihaz veya cildin mikro perforasyonu için bir cihaz.

Buluşun yine başka bir yönüne göre, bunun konusu, cilt hacmi kusurlarını doldurmak ve özellikle de kırışıklıkları doldurmak için çapraz bağlanmış bir jelin veya buluşa göre bir bileşimin kullanılmasıdır.

Buluşun yine başka bir yönüne göre, bunun konusu, kronolojik yaşlanmanın cilt işaretlerini ve/veya stres, atmosfer kirliliği, tütün veya ultraviyole (UV) radyasyona uzun süre maruz kalma gibi dış faktörler tarafından indüklenen cilt işaretlerini önlemek ve/veya tedavi etmek için buluşa göre çapraz bağlanmış bir jelin veya bileşimin kullanılmasıdır.

Buluşun yine başka bir yönüne göre, bunun konusu, cildin yüzey görünüşünün bir modifikasyonunu önlemek ve/veya tedavi etmek için çapraz bağlanmış bir jelin veya buluşa göre bir bileşimin kullanılmasıdır.

Buluşun yine başka bir yönüne göre, bunun konusu, cildin viskoelastik veya biyomekanik özelliklerinde bir modifikasyonun önlenmesi ve/veya tedavisi için çapraz bağlanmış bir jelin veya buluşa göre bir bileşimin kullanılmasıdır.

Mevcut buluşun amaçları doğrultusunda, "önleme" teriminin bir fenomenin ortaya çıkma riskini azaltması anlamına gelir.

Buluşun başka bir yönüne göre, bunun konusu, cilde çapraz bağlanmış bir jeli veya buluşa göre bir bileşimi uygulamada cildin içine veya boyunca en az bir adım içeren kozmetik bir cilt bakım prosesidir.

Mevcut buluşun bir başka yönüne göre, ikincisi, en azından aşağıdakileri içeren adımlardan oluşan, buluşa göre çapraz bağlanmış bir jelin hazırlanmasına yönelik bir proses ile ilgilidir:

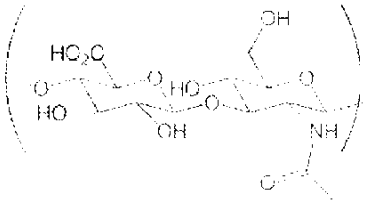
a) çapraz bağlanmamış durumda sulu bir hiyalüronik asit veya bunun bir tuzunun jelinin sağlanması,
b) a) adımında elde edilen jelin etkili bir miktarda en az bir endojen poliamin ile temas ettirilmesi,
c) b) adımında oluşturulan söz konusu karışımın çapraz bağlanması, söz konusu çapraz bağlanma, söz konusu hiyalüronik asit ve söz konusu endojen poliamin(ler)in kovalent birleştirilmesine uygun koşullar altında gerçekleştirilir ve
d) söz konusu çapraz bağlanmış hidrojelin geri kazanılması.

Özel bir uygulamaya göre, çapraz bağlanmış jelin, çapraz bağlanmanın durdurulmasına elverişli koşullara maruz bırakılmasından oluşan çapraz bağlanmanın durdurulması bir e) adımını da içermektedir, bu adımın geri kazanma adımı d)'den daha önce, birlikte veya daha sonra gerçekleştirilmesi mümkün olmaktadır.

Çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli

Daha önce belirtildiği gibi, buluşa göre olan çapraz bağlanmış bir hiyalüronik asit jeli, çapraz bağlanma maddesi olarak en az bir hiyalüronik asit veya bunun bir tuzunun en az bir endojen poliaminin ile çapraz bağlanmasından türetilir, söz konusu çapraz bağlanma hiyalüronik asit ve söz konusu endojen poliamin(ler)in birleştirilmesinin uygun koşullar altında gerçekleştirilmesiyle elde edilir.

Hiyalüronik asitler, alternatif D-glukuronik asit ve N-asetil-D-glukozamin birimlerine sahip doğrusal polisakaritlerdir.



Doğal olarak çeşitli dokularda bulunurlar ve vücutta bulunan hiyaluronidazlar veya oksidasyon mekanizmalarıyla bozunurlar.

Mevcut buluşun amaçları doğrultusunda, "endojen poliamin" terimi, canlı organizmalarda ve daha özel olarak insan vücudunda doğal olarak bulunan bir poliamini ifade etmeyi amaçlar.

Sonuç olarak, buluşa göre bir poliamin, sentetik kökenli bir poliamin olan heksametilendiaminden (HMDA) farklıdır.

Endojen poliaminlerin temsili yoluyla, hayvansal ökaryotlarda, putresin (veya 1,4-diaminobütan), spermidin (veya 1,8-diamino-5-azaoktan) ve spermin (1,12-diamino-5,9-diazadodekane)'den söz edilebilir.

Spermin bir tetraamindir ve spermidinden sentezlenir.

Spermidin

Spermin

Avantajlı bir şekilde, buluşa göre çapraz bağlanmış bir jeli elde etmek için kullanılan endojen poliamin, spermidin, spermin ve bunların bir karışımından ve daha iyi spermin arasından seçilebilir.

Spermin ve spermidin, DNA sentezi ve gen ekspresyonu gibi sayısız temel hücre mekanizmasında yer aldığından, bu seçim daha avantajlıdır. Topikal olarak kullanıldığında, cildin durumunu iyileştirme ve yaşlanma belirtilerini azaltma üzerindeki faydalı etkileri daha önce tarif edilmiştir (bakınız özel uygulama WO 2006/048671). Bu bileşiklerin aynı zamanda, tercih edilen antioksidanlar ve yaşlanma karşıtı aktif maddeler olduğu düşünülmektedir.

Mevcut buluşta dikkate alınan, hiyalüronik asit ve endojen poliamin(ler) arasında çapraz bağlanma reaksiyonu elde etmek için birleştirme reaksiyonu, bir amin fonksiyonu ile karboksilik asit arasındaki reaksiyon ile gerçekleştirilir, böylece bir amid fonksiyonunun oluşumuna neden olur.

Başka bir deyişle, bu buluşta düşünülen çapraz bağlanma reaksiyonu, endojen poliamin(ler) ile kovalent olarak bağlanmış çapraz bağlanmış hiyalüronik asit moleküllerinin oluşumuna yol açar. Elektrostatik etkileşimler yoktur.

Tüm beklentilere karşı, sonuçta ortaya çıkan çapraz bağlanmış jeller, çok indirgenmiş kabul edilen modifikasyon derecelerinin ışığında, daha önce belirtildiği gibi geleneksel prosesler vasıtasıyla çok tatmin edici olan veya hatta elde edilemeyen mekanik özellikler göstermektedir.

Dolayısıyla, buluşa göre çapraz bağlanmış bir jel avantajlı bir şekilde %1'den daha az veya ona eşit, tercihen %0.1 ile %1 arasında ve daha da iyisi %0.4 ile %0.8 arasında bir modifikasyon derecesine sahiptir.

Daha önce belirtildiği gibi, "modifikasyon derecesi", hiyalüronik aside bağlı endojen poliaminin mol sayısı ile söz konusu çapraz bağlanmış jeli oluşturan hiyalüronik asit mol sayısı arasındaki orana karşılık gelir. Bu miktar özellikle çapraz bağlanmış jelin 1D ^{1}H NMR analizi ile ölçülebilir.

"Hiyalüronik asidin mol sayısı" ifadesinin, hiyalüronik asidin tekrar eden disakarit birimlerinin mol sayısını ifade ettiği kastedilmektedir, disakarit birim, beta-1,4 ve beta-1,3 glikozidik bağlar aracılığıyla birbirleriyle alternatif olarak bağlanan D-glukuronik asit ve D-N-asetilglukozaminden oluşur.

Özel bir uygulamaya göre, buluşa göre olan çapraz bağlanmış bir jel, toplam hiyalüronik asit miktarına göre çapraz bağlanma reaksiyonuna tabi olmayan ağırlık olarak %0.5 ila %40 oranında hiyalüronik asit içerebileceği şekildedir.

Başka bir özel uygulamaya göre, buluşa göre olan çapraz bağlanmış bir jel 5 ile 30 mg/g arasında bir hiyalüronik asit konsantrasyonuna sahip olabilir.

Yine bir başka özel uygulamaya göre, buluşa göre olan çapraz bağlanmış bir jel 20 ile 1000 Pa, tercihen 40 Pa ile 400 Pa arasında bir elastisite modülüne (G') sahip olabilir.

Özel bir uygulamaya göre, buluşa göre çapraz bağlanmış bir jel, 45 °'den daha düşük bir faz açısına (δ) sahip ağırlıklı olarak elastik, viskoelastik bir hidrojel formunda olabilir.

Tercih edilen bir uygulamaya göre, buluşa göre olan çapraz bağlanmış bir jel, 20 ile 1000 Pa arasında, tercihen 40 Pa ile 400 Pa arasında, 45 °'den daha az bir faz açısıyla (δ) birleştirilmiş elastisite modülüne (G') sahip olabilir.

Özellikle, buluşa göre olan çapraz bağlanmış bir hiyalüronik asit jeli 34 G ve 18 G arasında bir çapa sahip olan bir hipodermik iğne vasıtasıyla enjekte edilebilir.

Yine bir başka özel uygulamaya göre, buluşa göre olan çapraz bağlanmış bir jel oldukça yapışkandır. Bu özellik, özellikle 100 Pa'dan büyük yüksek bir stres tarama çapraz stres ile kendini gösterir.

Elastisite modülü (G', Pa olarak) ve faz açısı (δ, ° olarak) aşağıdaki protokole göre ölçülebilir:

Ölçümler, 1°/35 mm çapında bir koni-plaka geometrisine sahip bir Thermo Haake RS3000 reometre kullanılarak bir stres taraması ile 1 Hz'lik bir frekansta 25 °C'de gerçekleştirilir. G' ve δ, 5 Pa'nın uygulandığı bir deformasyon stresinde, diğer bir deyişle G' ve δ'nin sabit kaldığı viskoelastisite aralığında kaydedilir. Çapraz stres değeri (G' viskoz modüllü G" ye eşit olduğunda azalır) daha sonra kaydedilir.

Buluşa göre yapışkan bir jel için bu çapraz stres bu nedenle 100 Pa'dan daha büyüktür.

Son olarak, belirli bir uygulamaya göre, buluşa göre çapraz bağlanmış bir jel sterilizasyona karşı yüksek direnç gösterebilir (sterilizasyonun neden olduğu G' kaybı %50'den azdır).

Sterilizasyon, bir F0>15 (sterilizasyon değeri) elde etmek üzere T° ≥ 121°C'de bir otoklavda (ıslak ısı) gerçekleştirilebilir.

Daha önce belirtildiği gibi, buluşa göre bir çapraz bağlanmış jelin elde edilmesi için çapraz bağlanma reaksiyonu, söz konusu hiyalüronik asidin ve söz konusu endojen poliamin (ler)in kovalent bağlanmasına elverişli koşullar altında gerçekleştirilir.

Mevcut buluşun amaçları doğrultusunda, "uygun koşullar" terimi, söz konusu bağlantıyı başlatan bir eleman anlamına gelir.

Bu başlangıç elemanının seçimi açıkça teknikte uzman kişilerin becerileri arasındadır. Genel olarak, bu birleşme en az bir "yardımcı birleşme maddesi" ile birleştirildiğinde uygun olan en az bir "aktivatör" bileşik vasıtasıyla gerçekleştirilir.

Örneğin, bu tür bir aktivatör, hiyalüronik asidin karboksil grubunun karbonunu daha elektrofilik yapma ve bu nedenle endojen poliamininin amin gruplarından birine göre reaktivitesini uyarma fonksiyonuna sahip olabilir.

Aktivatör Avantajlı bir şekilde bir yoğuşma maddesi, örneğin bir piridinyum tuzu, örneğin Magnani, A. *et al.* (Advanced Technologies 1 1, 488-495 (2000) 'e ait polimerler), Bulpitt, P. ve Aeschlimann (Biomed. J., Res. 47, 152-169 (1999)'da tarif edildiği gibi 2-kloro-1-metilpiridinyum, Bulpitt, P. & Aeschlimann (J. of Biomed. Materials Res. 47, 152-169 (1999)) bir karbodiimit veya a. Bergman *et al.* (Biomacromolecules 8, 2190 - 2195 (2007)) belgelerinde tarif edildiği gibi triazin türevi olabilir.

Tercihen, böyle bir aktivatör, 1-etil-3- (3-dimetilaminopropil)karbodiimid (EDC), 1-etil-3-(3-trimetilaminopropil)karbodiimid (ETC), 1-sikloheksil-3- (2-morfolinoetil) karbodiimid (CMC) ve ayrıca bunların tuzları ve bunların karışımları gibi suda çözünür karbodiimidlerden seçilebilir ve tercihen EDC ile temsil edilir.

Tercihen, mevcut olduğunda yardımcı bir birleştirme maddesi, N-hidroksisüksinimid (NHS), N-hidroksibenzotriazol (HOBt), 3,4-dihidro-3-hidroksi-4-okso-1,2,3-benzotriazol (HOOBt), 1-hidroksi-7-azabenzotriazol (HAt) ve N-hidroksisülfosüksinimid (sülfo NHS) ve bunların karışımları arasından seçilebilir ve tercihen HOBt ile temsil edilir.

Daha da tercihen, bu tür bir aktivatör, yardımcı birleştirme maddesi olarak HOBt ile kombinasyon halinde uygun olduğunda EDC'den seçilebilir.

EDC, karboksilat ile bir ara madde oluşturarak karboksilik asidi aktifleştirmeyi mümkün kılar. HOBt'nin reaksiyon ortamına eklenmesi, özellikle herhangi bir epimerizasyondan kaçınmayı ve reaksiyonu teşvik etmeyi mümkün kılar.

<u>Çapraz bağlanmış bir jel hazırlama prosesi</u>

Yukarıda belirtildiği gibi, mevcut buluş ayrıca, en azından aşağıdakileri içeren adımları içeren, buluşa göre çapraz bağlanmış bir jelin hazırlanmasına yönelik bir prosesle de ilgilidir:

a) çapraz bağlanmamış durumda sulu bir hiyalüronik asit veya bunun bir tuzunun jelinin sağlanması,
b) a) adımında elde edilen jelin etkili bir miktarda en az bir endojen poliamin ile temas ettirilmesi,
c) b) adımında oluşturulan söz konusu karışımı çapraz bağlanması, söz konusu çapraz bağlanma, söz konusu hiyalüronik asit ve söz konusu endojen poliamin (ler) in kovalent birleştirilmesi uygun koşullar altında gerçekleştirilir ve
d) söz konusu çapraz bağlanmış hidrojelin geri kazanılması.

Özel bir uygulamaya göre, çapraz bağlanmış jelin, çapraz bağlanmanın durdurulmasına elverişli koşullara maruz bırakılmasından oluşan çapraz bağlanmanın durdurulması bir e) adımını da içermektedir, bu adımın geri kazanma adımı d)'den daha önce, birlikte veya daha sonra gerçekleştirilmesi mümkün olmaktadır.

Özel bir uygulamaya göre, çapraz bağlanma adımı c) isteğe bağlı olarak en az bir yardımcı birleştirme maddesiyle, diğer bir deyişle tercihen daha önce belirtilenler arasından seçilen birleştirilecek olan bileşiklerin ikisinin en az birinin reaktivitesini uyaran bileşikler ile birleştirilen en az bir aktivatör varlığında gerçekleştirilebilir.

Aktivatörün ve isteğe bağlı olarak yardımcı birleştirme maddesinin ilave edilmesinin bu adımı, bu nedenle avantajlı bir şekilde, c) çapraz bağlanma adımı ile birlikte gerçekleştirilebilir.

Özel bir uygulamaya göre, buluşa göre bir jel elde etmek için kullanılan hiyalüronik asit, tuz formunda olabilir.

Tercihen, bir hiyalüronik asit tuzu, sodyum tuzu, potasyum tuzu, çinko tuzu, gümüş tuzu ve bunların bir karışımından, tercihen de sodyum tuzu arasından seçilebilir.

Avantajlı bir şekilde, buluşa göre bir jel elde etmek için kullanılan hiyalüronik asit, 50 000 ila 10 000 000 dalton, tercihen 500 000 ila 4 000 000 dalton arasında değişen ortalama bir moleküler ağırlığa sahip olabilir.

Çapraz bağlanma reaksiyonunun gerçekleştirilmesi için hiyalüronik asit miktarının ayarlanması, açıkça teknikte uzman kişilerin becerileri arasındadır.

Avantajlı bir şekilde, hiyalüronik asit veya bunun bir tuzu, buluşa göre çapraz bağlanmış bir jeli hazırlamak için bir proseste, b) adımının sonunda, diğer bir deyişle çapraz bağlanma adımı c)'nin gerçekleştirmeden önce elde edilen karışımın toplam ağırlığına göre, ağırlık olarak %0.5 ile %12, tercihen %1 ile %4 arasında bir içerikte kullanılabilir.

Çapraz bağlanma reaksiyonunu gerçekleştirmek için endojen poliamin(ler)in miktarının ayarlanması, açıkça teknikte uzman kişilerin becerileri arasındadır.

Çapraz bağlanma maddesinin miktarı, poliamin(ler)in mol sayısı ile jelin sentezlenmesi için kullanılan hiyalüronik asit mol sayısı arasındaki orana tekabül eder.

Avantajlı bir şekilde, bir veya daha fazla endojen poliamin(ler), buluşa göre çapraz bağlanmış bir hiyalüronik asit jelinin hazırlanmasında bir proseste, reaksiyon ortamında mevcut olan hiyalüronik asit mol sayısına göre, diğer bir deyişle b) adımının karışımına göre poliamin(ler)in mol sayısı olarak %0.1 ile %3'ü, tercihen %0.5 ile %1.5'i arasındaki bir miktarda kullanılabilir.

Avantajlı bir şekilde, bir veya daha fazla yardımcı birleşme maddesi(maddeleri) ile bir araya getirildiğinde uygun olan aktivatör(ler), buluşa göre bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli hazırlamak için bir proseste kullanılabilir, şöyle ki reaksiyon ortamının (n aktivatörü/n HA) hiyalüronik asit mol sayısına göre aktivatör(ler)in ve uygun olan hallerde yardımcı birleştirme maddesi(leri)nin mol sayısı 0.1 ile 2 arasında, tercihen 0.5 ve 1.5 arasındadır.

Çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli, en az bir endojen poliaminin mevcudiyeti göz önüne alınarak elde edilir.

Sonuç olarak, çapraz bağlanma sadece bu tip çapraz bağlanma maddesi kullanılarak gerçekleştirilebilir. Bununla birlikte, bu çapraz bağlanma ayrıca en az bir tamamlayıcı, özellikle geleneksel çapraz bağlanma maddesinin eşzamanlı mevcudiyeti dikkate alınarak da gerçekleştirilebilir.

Avantajlı bir şekilde, bu ek çapraz bağlanma maddesi, tek çapraz bağlanma maddesi olarak kullanıldığında geleneksel olarak tutulanlara kıyasla önemli ölçüde azaltılmış bir miktarda dikkate alınabilir.

Bu tamamlayıcı çapraz bağlanma maddesi epoksit, aldehit, poliaziridil, endojen poliaminler, polifosfatlar, divinilsülfondan (DVS) farklı olan poliaminler ve bunların karışımlarından, tercihen iki işlevli veya çok işlevli olan epoksit çapraz bağlayıcı maddeler arasından seçilebilir.

Tercihen, ilave çapraz bağlanma maddesi epoksitten, daha özel olarak 1,4-bütandiol diglisidil eter (BDDE), diepoksioktan veya 1,2-bis (2,3-epoksipropil)-2,3-etilen, 1,4-bis (2,3-epoksipropoksi)bütan, 1,4-bisglisiloksi-bütan, 1,2-bis(2,3-epoksipropoksi)etilen, 1-(2,3-epoksipropil)-2,3-epoksisikloheksan ve bunların karışımları ve daha iyisi 1,4-bütandiol diglisidil eterden (BDDE) seçilebilir.

Ayrıca, bir alkali metal halojenürün inorganik bir tuzunun varlığı da çapraz bağlanma reaksiyonu sırasında düşünülebilir.

Gerçekten de, beklenmeyen bir şekilde, buluş sahipleri, çapraz bağlanma reaksiyonunu gerçekleştirirken bir alkali halojenürün inorganik bir tuzunun varlığının, çapraz bağlanma jelinin aynı çapraz bağlanma derecesi için reolojik özelliklerini daha da iyileştirmeyi mümkün kıldığını belirtmişlerdir.

Mevcut buluşun amaçları doğrultusunda, "bir alkali halojenürün tuzu" terimi, bir alkali katyondan ve mutlaka bir halojen atomunu temsil eden bir anyondan oluşan bir bileşiği ifade etmeyi amaçlar.

Avantajlı bir şekilde, halojen atomu flor, klor, brom ve iyot arasından seçilebilir ve tercihen klor ile temsil edilir.

Tercihen, buluşa göre bir alkali halojenürün inorganik bir tuzu, sodyum tuzları, potasyum tuzları ve sezyum tuzları arasından seçilebilir ve daha da iyisi bir sodyum tuzu ile temsil edilir.

Daha da tercihen, buluşa göre bir alkali halojenürün inorganik bir tuzu NaCl olabilir.

Aslında NaCl, fizyolojik olarak kabul edilebilir olma avantajına sahiptir ve çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jellerinin bileşiminin bir parçası olan hammaddelerden birinin bileşenlerinden biridir.

Avantajlı bir şekilde, bir alkali halojenürün inorganik tuzu(tuzları) buluşa uygun bir proseste, b) adımının sonunda elde edilen karışımın toplam ağırlığına göre ağırlık olarak %0.5 ile %20, tercihen %1 ile %10 arasında bir içerikte kullanılabilir.

Yukarıda bahsedilenlerin ışığında, buluşa göre olan çapraz bağlanmış bir hiyalüronik asit jeli hazırlamak için bir proses, ilk önce, bir çapraz bağlanma maddesi olarak en azından bir endojen poliamin ile birleştirilmiş, çapraz bağlanmamış bir formda en az hiyalüronik asit içeren sulu bir jel temin edilmesini gerektirir.

Mevcut buluşun amaçları doğrultusunda, "çapraz bağlanmamış" terimi, çapraz bağlanmamış veya dönüştürülmemiş sulu bir hiyalüronik asit jeli, diğer bir deyişle polimer zincirlerinin birbirlerine güçlü veya kovalent bağlarla bağlı olmadığı bir hiyalüronik asit çözeltisi anlamına gelmektedir.

Daha spesifik olarak, a) adımında ele alınan sulu jel önceden uygun bir kap içinde bir araya getirilerek elde edilebilir:

(i) sulu bir ortam;

(ii) en azından hiyalüronik asit veya bunun bir tuzu, çapraz bağlanmamış bir formda; ve

(iii) uygun olduğu yerde, en az bir endojen poliamin; ve elde edilen karışımın homojenleştirilmesi, söz konusu bileşikler (i), (ii) ve (iii)'nin hazneye eklenmesinin sırası önemsizdir.

Başka bir deyişle, a) adımındaki sulu jelin, buluşa göre olan prosesin en az bir endojen poliaminin varlığını göz önünde bulundurması durumunda, a) ve b) adımları daha sonra eşzamanlı olarak gerçekleştirilir.

Bir birinci uygulama varyantına göre, bu sulu jel, sulu ortamın ve hiyalüronik asidin hazneye eklenmesiyle, bu şekilde oluşan karışımın eşzamanlı ve/veya ardışık homojenleştirilmesiyle ve uygun olduğunda, çapraz bağlanma maddesinin eşzamanlı ve/veya ardışık homojenleştirme ile eklenmesi ile oluşturulabilir.

Bir ikinci uygulama varyantına göre, bu sulu jel, bu şekilde oluşan karışımın eşzamanlı ve/veya ardışık homojenleştirilmesiyle, sulu ortamın, hiyalüronik asidin ve çapraz bağlanma maddesinin hazneye eklenmesiyle elde edilebilir.

Bu ikinci uygulama varyantı, tek bir homojenleştirme adımının gerçekleştirilmesi bakımından avantajlıdır.

Avantajlı bir şekilde, sulu jeli oluşturma adımı 35 °C'nin altındaki bir sıcaklıkta, tercihen 15 ila 25 °C arasındaki bir sıcaklıkta ve ortam sıcaklığında daha iyi bir şekilde gerçekleştirilebilir.

a) adımında ele alınan sulu jel avantajlı bir şekilde homojendir.

Bu kalite, sulu jelin homojenize edildiği bir işlemle garanti edilir; söz konusu işlem, muhtemelen a) adımına yönelik bir öncelikli bir adımı teşkil eder.

İsteğe bağlı olarak çapraz bağlanma maddesinin mevcudiyetinde gerçekleştirilen bu işlemin amacı, sulu ortamdaki hiyalüronik asidi hidratlamak ve tamamen homojenleştirmek ve uygun olduğunda çapraz bağlanma maddesini homojenize etmek ve böylece beklenen çapraz bağlanmış jelin niteliklerinin optimizasyonuna katkıda bulunmaktır.

Gerçekten de, açık nedenlerden ötürü, çapraz bağlanmış jelin homojenliği, çapraz bağlamadan önce jelin homojen yapısına yakından bağlıdır.

Elde edilen çözelti, topaksız homojen bir renklenmeye ve üniform bir viskoziteye sahip olduğunda homojenizasyonun tatmin edici olduğu kabul edilir. Hiyalüronik asit zincirlerinin bozulmasını önlemek için hafif çalışma koşullarında avantajlı bir şekilde gerçekleştirilebilir.

Bu adım, hiyalüronik asit, yüksek bir moleküler ağırlığa sahip olduğunda, daha önemlidir. Bu durumda böyle bir bileşiğin hidratlanması, aslında, aglomeratların görünümünün yaygın olarak gözlendiği, yüksek viskoziteli bir çözeltinin oluşumunu üretme eğilimindedir.

Yukarıda anılanlardan ortaya çıktığı gibi, b) adımında oluşturulan karışım, veya uygun olduğu durumlarda, a) adımındaki sulu jel, çapraz bağlanma maddesinin varlığı göz önüne aldığında, daha sonra, çapraz bağlanma reaksiyonuna tabi tutulur, buluşa göre çapraz bağlanmış bir hiyalüronik asit jeli hazırlama prosesinin c) adımı ile gösterilmiştir.

Daha önce belirtildiği gibi, bu çapraz bağlanma, söz konusu hiyalüronik asit ve söz konusu endojen poliamin(ler)in birleştirilmesine uygun koşullar altında gerçekleştirilir.

Bu birleşmeyi ve dolayısıyla çapraz bağlanma reaksiyonunu indüklemek için tutulması gereken uygun koşullar, hiyalüronik asidin moleküler ağırlığına, sulu ortamda ve çapraz bağlanma maddesinin yapısına, bu durumda endojen bir poliamin tamamen bağlı olabilir veya kısmen bununla oluşturulur.

Bu elverişli koşullar özellikle yukarıda belirtildiği gibi en az bir yardımcı birleştirme maddesiyle birleştirildiğinde en az bir aktivatörün mevcudiyeti ile yansıtılabilir.

Daha önce belirtildiği gibi, aktivatörün eklenmesi adımı ve uygun olduğu yerde yardımcı birleştirme maddesi tercihen çapraz bağlanma adımı c) ile birlikte gerçekleştirilebilir.

Bununla birlikte, özel bir uygulamaya göre, aktivatör ve uygun olduğu yerde, yardımcı birleştirme maddesi, c) çapraz bağlanma adımından önce ve daha özel olarak en az bir endojen poliamin ilave etme adımından önce eklenir(ler).

Başka bir uygulamaya göre, aktivatörün eklenmesi için bu adım ve uygun olduğunda yardımcı birleşme maddesi, b) adımı ile birlikte gerçekleştirilir, bu durumda b) adımı daha sonra c) çapraz bağlanma adımı ile birlikte gerçekleştirilir.

Ayrıca, çapraz bağlamanın derecesi, b) adımının sonunda elde edilen karışıma uygulanan çapraz bağlanma adımının süresine de bağlıdır. Süre uzadıkça, çapraz bağlanma derecesi yükselir, bu aşılmaması gereken bir optimumdur, aksi takdirde hiyalüronik asidin parçalanması riski vardır.

Böylece, hiyalüronik asidin çapraz bağlanması EDC ve HOBt mevcudiyetinde gerçekleştirildiğinde, çapraz bağlanma adımı c) 30 dakika ila 72 saat, tercihen 3 ila 24 saat arasında değişen bir süre boyunca gerçekleştirilebilir.

Daha önce tarif edildiği gibi, çapraz bağlanmanın durdurulması (adım e) d) adımı jelin geri kazanılmasından önce, birlikte veya bundan sonra meydana gelebilir.

Böyle bir e) adımı, çapraz bağlanmış jelin veya çapraz bağlanan jelin veya hatta bunu içeren kapağın, söz konusu çapraz bağlanmayı durdurmaya elverişli koşullara veya çeşitli polisakkarit zincirler arasında bağ oluşumunu durdurabilecek koşullara maruz bırakılmasını gerektirebilir.

Bu adım, tüm reaktifler c) adımı sırasında tüketilirse veya jeli fizyolojik pH'ye geri getiren ve reaksiyona girmemiş artık reaktifleri elimine eden bir saflaştırma adımı ile teşvik edilirse bu adım doğal olarak başlatılabilir.

Tercih edilen bir uygulamaya göre, değişken, e) adımı adım d)'den önce gerçekleştirilir.

Özellikle tercih edilen bir uygulamaya göre, buluşa göre olan proseste, (i) sodyum hiyalüronat, (ii) çapraz bağlanma maddesi olarak spermin ve (iii) aktivatör olarak HOBt ile kombinasyon halinde yardımcı birleştirme maddesi olarak EDC kullanılır.

Açık nedenlerden dolayı, buluşun prosesinin sonunda elde edilen çapraz bağlanmış jel genel olarak doğrudan enjekte edilemez, çünkü karşılık gelen sulu formülasyon fizyolojik koşullarla uyumlu olmayabilir veya uygun bir pH'ye sahip olamaz.

Bu nedenle, teknikte uzman kişilerce bilinen bir veya daha fazla ilave adım gerçekleştirilebilir.

Daha özel olarak, buluşa göre jelin saflaştırılması adımı, ikincisini fizyolojik pH'ye geri getirmeyi ve reaksiyona girmemiş artık reaktifleri elimine etmeyi mümkün kılar.

Bu saflaştırma adımı özellikle bir diyaliz adımı ile temsil edilebilir. Dahası, müteakip homojenizasyon, çapraz bağlanmış olmayan hiyalüronik asit ve isteğe bağlı olarak fraksiyonlama adımlarının uygulanması, teknikte uzman kişilerin bildiği gibi, implantın niteliklerini daha da arttırmak için de gerçekleştirilebilir. Jel, enjekte edilen ortamınkine eşdeğer miktarlarda tuzların mevcudiyeti yoluyla fizyolojik olarak formüle edilmelidir.

Son olarak, ortaya çıkan hidrojel, kontrollü atmosfer koşulları altında şırıngalara paketlenebilir, söz konusu şırıngaların daha sonra bir sterilizasyon adımına, tercihen ısı sterilizasyonuna tabi tutulması mümkündür.

Bileşim

Mevcut buluşun yukarıda belirtildiği gibi başka bir yönüne göre, sonuncusu ayrıca, fizyolojik olarak kabul edilebilir bir ortamda, yukarıda tanımlandığı gibi en az bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli içeren steril enjekte edilebilir bir dermatolojik bileşim ile ilgilidir.

Enjekte edilebilir özelliği gereği, buluşa göre olan bir bileşimin bu nedenle mutlaka fizyolojik olarak kabul edilebilir bir ortam içermesi gerekir.

"Fizyolojik olarak kabul edilebilir ortam" terimi, toksisite içermeyen ve bileşimin keratin malzemelerine veya bunların içinden enjeksiyonu ve/veya uygulaması ile uyumlu olan bir ortamı ifade eder.

Bileşim, fizyolojik olarak kabul edilebilir bir çözücü veya fizyolojik olarak kabul edilebilir çözücülerin bir karışımını içerebilir.

Bileşim, fizyolojik olarak kabul edilebilir bir sulu ortam içerebilir.

Buluş için uygun olan sulu ortam yoluyla, örneğin, sudan yapılabilir.

Buluş için uygun olan bir bileşimin hazırlanmasına uygun olan izotonik maddeler yoluyla, şeker ve sodyum klorürden söz edilebilir.

Mevcut buluşun yukarıda belirtildiği gibi, yine bir başka özelliğe göre, ikincisi, buluşa göre en az bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli içeren bir dermatolojik veya kozmetik bileşime ilişkindir.

Uygulama yolu ile sınırlı olmayan bu uygulama, sonuç olarak adı geçen bileşimin topikal olarak uygulanmasına izin verir.

Ek aktif maddeler

Buluşa göre olan bir bileşim ayrıca steril enjekte edilebilir bileşimler alanında kullanıma uygun en az bir ek aktif madde içerebilir.

Bu buluşta kullanılabilen ilave aktif maddeler arasında, antioksidanlar, amino asitler, vitaminler, mineraller, nükleik asitler, koenzimler, adrenalin içeren türevler ve bunların karışımlarından söz edilebilir.

Antioksidanlar sayesinde, söz konusu özellikle glutation, ellagik asit, spermin, resveratrol, retinol, L-karnitin, polioller, polifenoller, flavonoller, teaflavinler, katekinler, kafein, ubikuinol, ubikinon ve bunların bir karışımından söz edilebilir.

Amino asitler açısından, özellikle, arginin, izolösin, lösin, lisin, glisin, valin, treonin, prolin, metiyonin, histidin, fenilalanin, triptofan ve bunların bir karışımından söz edilebilir.

Vitaminler veya bunların türevleri açısından, söz konusu özellikle E, A, C ve B vitaminlerinden, daha özel olarak B_6, B_8, B_4, B_5, B_9, B_7 ve B_{12}'den vitaminlerinden ve daha iyi piridoksinden söz edilebilir.

Mineraller açısından, özellikle, çinko tuzları, magnezyum tuzları, kalsiyum tuzları, potasyum tuzları, manganez tuzları, sodyum tuzları ve bunların bir karışımından söz edilebilir.

Nükleik asitler açısından, özellikle adenosin, sitidin, guanozin, timidin, sitodin ve bunların bir karışımının türevlerinden söz edilebilir.

Koenzimler açısından, özellikle koenzim Q10, CoA, NAD, NADP ve bunların bir karışımından söz edilebilir.

Adrenalin içeren türevler açısından, özellikle adrenalin ve noradrenalinden söz edilebilir.

Ayrıca, buluşa göre bir bileşim, fizyolojik olarak uygun içeriklerde örneğin sodyum dihidrojen fosfat monohidrat ve/veya dihidrat ve sodyum klorür gibi teknik sahada kullanılan herhangi bir eksipiyanı da içerebilir.

Ek aktif maddelerin ve/veya eksipiyanların miktarları, elbette, düşünülen bileşiğin doğasına, arzu edilen etkiye ve buluşa göre bileşimin destinasyonuna bağlıdır.
Bu parametreler, teknikte uzman kişilerin genel becerileri arasındadır.

Avantajlı bir şekilde, buluşa göre bir bileşim, söz konusu bileşimin toplam ağırlığına göre 2 ppm ila 10 000 ppm, tercihen 5 ila 1000 ppm ve daha da iyisi 50 ila 500 ppm ek aktif madde ve/veya eksipiyan içerebilir.

Ayrıca, kırışıklıkları doldurma amaçlı bir bileşimin enjeksiyonunun sıklıkla hasta için acı verici bir his yarattığı bilinmektedir.

Dolayısıyla, özel bir uygulamaya göre, buluşa göre bir bileşim ayrıca en az bir anestezik madde içerebilir.

Bir anestezik madde, buluşa uygun bir bileşimin uygulanmasında ve/veya sonrasında hastanın hissettiği ağrılı hissi azaltma veya hatta ortadan kaldırma avantajına sahiptir.

Dahası, buluş sahipleri, böyle bir bileşiğin varlığının, buluşa göre bir bileşimde kullanılan diğer bileşiklerle ve özellikle de hiyalüronik asitle uyumsuzluk riskini arttırmadığını belirtmişlerdir.

Mevcut buluşta kullanılabilen bir anestezik, ambukain, amolanon, amilokain, artikain, benoksinat, benzokain, betoksikain, bifenamin, bupivakain, bütakain, bütamben, bütanilikain, butetamin, bütoksikain, kartikain, kloroprokain, kokaetilen, kokain, siklometilasin, dibukain, dimetisokin, dimetokain, diperodon, disiklonin, ekgonidin, ekgonin, etil klorür, etidokain, beta-eukain, euprosin, fenalkomin, formokain, heksilkain, hidroksitetrakain, izobütil p-aminobenzoat, lösinokain mesilat, levoksadrol, lidokain, mepivakain, meprilkain, metabutoksikain, metil klorür, mersilin, naepain, oktakain, ortokain, oksetazain, patoksikain, fenakain, fenol, piperokain, piridokain, polidokanol, pramoksin, prilokain, prokain, propanokain, proparakain, propipokain, propoksiain,

psödokokain, pirokain, ropivakain, salisil alkol, tetrakain, tolikain, trimekaine, zolamin veya bunların bir tuzu arasından seçilir.

Daha özel olarak, mevcut buluşta kullanılabilen bir anestezik, artikain, benzokain, bupivakain, kloroprokain, lidokain, mepivakain, prilokain, prokain, ropivakain ve tetrakain arasından seçilebilir.

Tercihen, anestezik lidokain ve daha iyisi lidokain hidroklorür olabilir.
Buluşa göre olan bir bileşim avantajlı bir şekilde söz konusu bileşimin toplam ağırlığına göre ağırlık olarak %0.01 ila %1, tercihen ağırlık olarak %0.1 ila %0.5 anestetik(ler) içerebilir.

Özel bir uygulamaya göre, çapraz bağlanmış bir formdaki hiyalüronik aside ek olarak buluşa göre bir jel veya bir bileşim çapraz bağlanmış olmayan bir formda hiyalüronik asit de içerebilir.

Serbest ve çapraz bağlanmış biçimde hiyalüronik asidin böyle bir kombinasyonu derhal nemlenme ile sonuçlanır ve cilt hacminin korunmasına neden olur. Ayrıca, esas olarak serbest hiyalüronik asit varlığından dolayı dermal fibroblastların yükselmesine neden olur ve çapraz bağlanmış hiyalüronik asit *in vivo* olarak bozundukça fibroblastların bu artışı zaman içinde uzar. İşlevsel bir bakış açısına göre, çapraz bağlanmamış hiyalüronik asidin varlığı, jelin bir iğneden ekstrüzyon kuvvetlerini önemli ölçüde geliştirmeyi mümkün kılar, böylece uygulayıcı tarafından ürünün enjekte edilmesi için uygulanacak kuvveti kolaylaştırır.

Steril, enjekte edilebilir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jel veya dermatolojik bileşimin uygulanması

Bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli veya buluşa göre bir bileşim, teknikte uzman kişilerce bilinen modlardan herhangi biri kullanılarak enjekte edilebilir.

Özellikle, buluşa göre bir jel veya bir bileşim, intraepidermal ve/veya intradermal ve/veya subkütanöz enjeksiyon için uygun bir enjeksiyon cihazı vasıtasıyla uygulanabilir.

Enjeksiyon cihazı bir şırınga, bir dizi mikro şırınga, bir hidrolik, lazer cihazı, bir enjeksiyon tabancası, iğnesiz bir enjeksiyon cihazı veya bir mikro iğne silindirden seçilebilir.

Tercihen, enjeksiyon cihazı bir şırıngadan veya bir dizi mikro şırıngadan seçilebilir.

Tercihen, böyle bir araç bir hipodermik iğne veya bir kanül olabilir.

Buluşa göre olan bir iğne veya kanül, 18 ila 34 G, tercihen 25 ila 32 G arasında değişen bir çapa ve 4 ila 70 mm ve tercihen 4 ila 25 mm arasında değişen bir uzunluğa sahip olabilir.

İğne veya kanül avantajlı bir şekilde tek kullanımlıktır.

Avantajlı bir şekilde, iğne veya kanül, söz konusu enjekte edilebilir bileşimin iğne veya kanül içinden iletilmesi için bir şırınga veya başka bir cihazla birleştirilir. Bir uygulamaya göre, iğne/kanül ve şırınga arasına bir kateter yerleştirilebilir.

Bilinen bir şekilde, şırınga pratisyen tarafından veya başka bir şekilde tabancalar gibi bir şırınga desteği ile elle çalıştırılabilir.

Kit

Mevcut buluşun başka bir yönüne göre, ikincisi aşağıdakileri içeren bir kit ile ilgilidir:

- en az bir doz çapraz hiyalüronik asit jeli veya buluşa göre olan bir bileşim içeren bir ambalaj; ve
- söz konusu dozun uygulanması için ayrılan cildin içine veya boyunca enjekte etmek için bir cihaz veya cildin mikro perforasyonu için bir cihaz.

Ambalaj, jelin veya buluşa uygun bileşimin en az bir dozunun depolanması için uygundur.

Ambalaj, ayrıca, söz konusu jelin veya söz konusu bileşimin örneklenebilmesine izin verecek şekilde düzenlenebilir.

Böylece, birinci uygulamaya göre, söz konusu ambalaj söz konusu jelin veya söz konusu bileşimin örneklenmesine izin verecek şekilde çentiklenir.

Örneğin, bir ampul, bir şişe veya bir kapsül, özellikle de yumuşak bir kapsül biçiminde olabilir.

Tercihen, ambalaj tek doz olabilir ve/veya çentiklenmiş bir uca sahip olabilir.
Bir ikinci uygulamaya göre, söz konusu ambalaj, depolama sırasında hermetik sızdırmazlığa izin veren ve kullanım sırasında bir iğne veya kanül ile delinebilen bir başlığa sahiptir.

Enjeksiyon cihazı ile ilgili olarak, daha önce tanımlandığı gibi olabilir ve tercihen tek kullanımlık olabilir.

Tercihen, enjeksiyon cihazı bir intraepidermal ve/veya intradermal ve/veya subkütanöz enjeksiyon için uygundur.

Tercihen, söz konusu cihaz mezoterapi tekniği için uygundur.

Kullanım

Mevcut buluşun yine bir başka yönüne göre, sonuncusu, çapraz bağlanmış bir hiyalüronik asit jelinin veya buluşa göre bir bileşimin, kronolojik yaşlanmanın ve/veya kütanöz işaretlerin stres, tütün ve/veya UV radyasyonuna uzun süre maruz kalmak gibi dış faktörlerin neden olduğu kütanöz işaretlerin önlenmesi ve/veya tedavi edilmesi için kullanılması ile ilgilidir.

Bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli veya buluşa göre bir bileşim ayrıca, cildin yüzey görünümünün bir modifikasyonunu, cildin viskozelastik veya biyomekanik özelliklerinin bir modifikasyonunu, hücre enerji metabolizmasında veya cildin dehidrasyonunda azalmayı önlemek ve/veya tedavi etmek için kullanılabileceği için avantajlıdır.

Bir çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli veya buluşa göre bir bileşim, cilt hacmi kusurlarını, özellikle parlaklıkları doldurmak ve/veya cildin ışınımını eski haline getirmek için kullanılabileceğinden yine avantajlıdır.

Tedavi prosesi

Mevcut buluşun başka bir yönüne göre, ikincisi, deriye çapraz bağlanmış bir hiyalüronik asit jeli veya buluşa göre bir bileşimin cildin içine veya cilt boyunca uygulanması için en az bir adımı içeren kozmetik bir cilt bakım prosesi ile ilgilidir.

Özel bir uygulamaya göre, uygulama adımı tedavi edilecek yüzeyin tamamı veya bir kısmı üzerinde tekrar edilebilir. Enjeksiyonların tekrarı, buluşa uygun bileşimin, tedavi edilecek cilt bölgesinde homojen bir şekilde dağıtıldığı şekilde bir tabaka oluşturmayı mümkün kılar.

Özel bir uygulamaya göre, buluşun bir prosesiyle avantajlı bir şekilde tedavi edilen cilt bölgeleri cilt ve dudaklar ve özellikle yüz, boyun, boyun çizgisi, eller, kafa derisi, karın ve/veya bacakların derisidir.

Buluşa göre bir jel veya bir bileşim, avantajlı bir şekilde kırışıklıklar ve ince çizgiler seviyesinde enjekte edilebilir.

Birkaç enjeksiyon tekniği vardır.

Kullanılabilir teknikler açısından, yüzeysel dermis içindeki buluşa göre bolus olarak adlandırılan bir bileşimin, ortalama 0.05 ml'lik bir bileşiminin enjeksiyonunu içeren "çoklu bolus" tekniğinden söz edilebilir, söz konusu boluslar yaklaşık 1 cm aralıklarladır. Bu teknik özellikle yüz ve boyun çizgisi için önerilir.

Yüzeysel dermiste lineer izleme enjeksiyonlarının yapılmasını, iğnenin cilt depresyonu boyunca 45° açıyla sokulmasının ve daha sonra hafifçe iğneyi çekerken buluşa uygun bileşimin yüzeysel dermiste depolanmasından oluşan "geri izleme" tekniğinden de söz edilebilir.

Son olarak, epidermiste buluşa göre az miktarda bileşim enjeksiyonunun bir artmasının gerçekleştirilmesinden oluşan "çok delikli" teknikten söz edilebilir. Enjeksiyon noktaları

birbirine çok yakındır, örneğin yaklaşık olarak her 3 mm'de birdir ve işlenecek yüzeyin üzerinde düzgün bir şekilde dağıtılır veya kırışıklık boyunca bir çizgi oluşturarak dağıtılır. Bu teknik özellikle cilt rengini eşitlemek için önerilir.

Buluşa göre olan tedavi prosesinin, cilt yaşlanmasının veya fotoyaşlanma işaretlerinin önlenmesi ve/veya tedavi edilmesi için avantajlı olduğu da kanıtlanmıştır, özellikle buruşuk cilt, viskoelastik veya biyokimyasal özelliklerinin bir modifikasyonunu sergileyen bir cilt, dokusunun uyumunda bir modifikasyon gösteren cilt, incelmiş cilt, yüzey görünümünün bir modifikasyonunu sergileyen bir cilt, cildin gevşemesi arasından seçilmiştir.

Mevcut buluşa göre olan tedavi prosesinin ayrıca hücre enerji metabolizmasında veya derinin dehidrasyonunda bir düşüşün önlenmesi ve/veya tedavi edilmesi için avantajlı olduğu kanıtlanmıştır.

Mevcut buluşa göre olan tedavi prosesinin ayrıca cilt hacmi kusurlarını, özellikle kırışıklıkları doldurmak ve/veya cildin ışınımını eski haline getirmek için avantajlı olduğu kanıtlanmıştır.

Mevcut buluşa göre olan tedavi prosesi tercihen bir epidermal, dermo-epidermal ve/veya dermal hatta cilt altı bir bölgede gerçekleştirilebilir.

Mevcut başvuru boyunca, "içeren" ifadesi, "en az birini içeren" ve "... ve ... arasında" ve "...ve ... arasında değişen" ifadesiyle ortalama sınırlar dahilinde olduğu anlaşılmalıdır.
Aşağıdaki örnekler, mevcut buluşun sınırlayıcı olmayan gösterimleri yoluyla verilmiştir.

ÖRNEKLER

Örnek 1: Çapraz bağlanma maddesi olarak spermin ile çapraz bağlanmış bir hiyalüronik asit jeli hazırlamak için protokol

Hiyalüronik asit, su içinde %3'lük bir konsantrasyonda (ağırlık olarak) çözündürülür. Homojen bir çözelti elde ettikten sonra, spermin içeren bir çözelti (Sigma-Aldrich firması tarafından Sigma adı altında satılan bir ≥%96), aktive edici olarak EDC (Sigma-Aldrich firması tarafından Fluka adı altında satılan N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilkarbodiimid hidroklorür ≥ %98.0) ve HOBt yardımcı birleşme maddesi olarak

(Sigma-Aldrich firması tarafından Aldrich adıyla satılan 1-hidroksibenzotriazol hidrat ≥%97) hiyalüronik asit çözeltisine eklenir. Bu çözeltinin hacmi, %2.3 hiyalüronik asit içeren genel bir karışım elde edecek şekilde tanımlanır.

Bu çözeltinin pH'ı, seyreltik bir HCl veya NaOH çözeltisi kullanılarak reaksiyondan önce toplam 5.5 ile 6.5 arasında bir karışımın pH'ını elde edecek şekilde ayarlanır.

Reaktif miktarları, arzu edilen modifikasyon derecesine göre ayarlanır.

Poliamin için 5 x 10^{-3} ile 2 x 10^{-2} mol/mol hiyalüronik asit tekrar birimi ve birleştirme reaksiyonunda yer alır aktivatör ve yardımcı birleştirme maddesi için 0.5 ile 1 mol/mol hiyalüronik asit tekrar birimi içerirler. Kullanılan sitokiyometreler verilen örneklerde belirtilmiştir.

Çapraz bağlanma için, sulu jel 25 °C'de 7 ila 24 saat boyunca maruz bırakılır.

Çapraz bağlandıktan sonra elde edilen jel, 2 ila 3 gün boyunca birkaç diyaliz banyosu vasıtasıyla saflaştırılır ve gerekirse fizyolojik pH'ye ayarlanır.

Yıkamadan sonra elde edilen sulu jel, 20 mg/g'ye yakın bir hiyalüronik asit konsantrasyonunu içerir.

Jeli bir iğneden geçirmek için ekstrüzyon kuvvetlerini kolaylaştırmak için çapraz bağlanmış olmayan hiyalüronik asit daha sonra yukarıda elde edilen jele eklenir ve homojenleştirilir.

Sterilizasyon, bir F0> 15 (sterilizasyon değeri) elde etmek üzere T° ≥ 121 °C'de bir otoklavda (ıslak ısı) gerçekleştirilir.

<u>Örnek 2:</u> Buluşa uygun (spermin ile) ve karşılaştırmalı (HMDA ile) çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jellerinin hazırlanması

Yukarıdaki Örnek 1'de tanımlanan protokol temelinde üç çapraz bağlanmış hiyalüronik asit jeli hazırlanır.

Bu üç jel için, n HOBt = n EDC = n HA.

Bu üç jel, aşağıda Tablo 1'de gösterildiği gibi, göz önünde bulundurulan poliaminin yapısı ve/veya "poliamin/hiyalüronik asit" oranı nedeniyle birbirlerinden farklıdır. Son sütun [HA], elde edilen jellerin hiyalüronik asit konsantrasyonunu belirtir.

Tablo 1:

Çapraz bağlanmış jel	Çapraz bağlanma maddesi	Sitokiyometri: n poliamin/n HA	[HA], mg/g
A (karşılaştırmalı)	HMDA*	0.100	21
B	Spermin	0.020	21
C	Spermin	0.010	21

* HMDA= hekzametilendiamin

n HOBt = n EDC = n HA

1) A, B ve C jellerinin modifikasyon derecesinin karakterizasyonu

Örnek hazırlama protokolü

A, B ve C jelleri izopropanol ile yıkanır/çökeltilir.

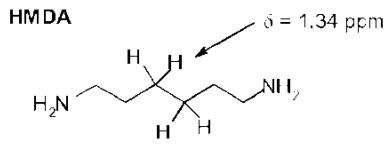
Elde edilen katılar kurutulur ve daha sonra D_2O içerisinde çözündürülür ve analiz için bir sıvı matris elde etmek amacıyla jelin ayrıştırılması için 1 ml D_2O içinde hiyalüronidaz (tip VI-S, Sigma, 3kU) varlığında tedavi edilir.

Elde edilen homojen karışım daha sonra ^1H NMR ile analiz edilir.

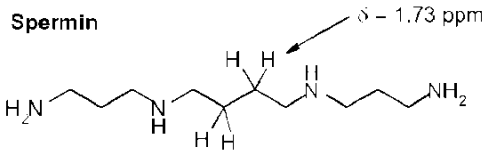
Modifikasyon derecesinin ölçülmesi

İlgili modifikasyon derecelerinin A, B ve C jellerinde karakterizasyonu NMR spektroskopisi ile gerçekleştirilir.

Poliaminler için, HMDA için 1.34 ppm'de ve spermin için 1.73 ppm'de ^1H proton tepe noktaları referans olarak tutulur.



Spermin



Çapraz bağlanmış üç hiyalüronik asit jelinin her birinin modifikasyon derecesi, aşağıdaki referanslara göre bu referans tepe noktalarının integrali kullanılarak karakterize edilir:

$$\text{Modifikasyon derecesi} = \frac{\left(\frac{Integral\ \delta_{H\text{-referans}}}{X}\right)}{\left(\frac{Integral\ \delta_{Asetamid}}{3}\right)}$$

X: ölçüm için tutulan tepe noktası protonlarının sayısı, diğer bir deyişle spermin ve HMDA için 4.

δ-Asetamid: HA'nın asetamid pikine karşılık gelen kayma, bu nedenle 3 proton içermektedir.

NMR analizi, 400 MHz'de (^{1}H) çalışan bir Bruker Avance 1 spektrometresi üzerinde gerçekleştirilir.

Çeşitli sonuçlar ve gözlemler aşağıdaki Tablo 2'de özetlenmiştir:

Tablo 2

JEL	δH-ref (ppm)	X	Modifikasyon derecesi (%)
A (HMDA kontrol)	1.34	4	5.0
B	1.73	4	**0.7**
C	1.73	4	**1.0**

Yukarıdaki Tablo 2'den, buluşa göre çapraz bağlanmış jellerin B ve C modifikasyon derecelerinin, kontrol jel A'nınkilerle karşılaştırıldığında, önemli ölçüde azaltılmış olduğu ortaya çıkmaktadır.

Bu nedenle, spermin ile çapraz bağlanmış hiyalüronik asit, HMDA ile çapraz bağlanma sonucunda ortaya çıkandan daha az modifiye edilmiştir.

2) Mekanik özelliklerin karakterizasyonu

a) A, B ve C jellerinin viskoelastik özellikleri, elastisite modülü G' (Pa cinsinden) ve 5 Pa bir stres için 1 Hz'de ölçülen faz açısı δ (°) ölçümü ile karakterize edilir.

Bundan sonra Tablo 3, ölçülen değerleri göstermektedir.

Tablo 3

	Genlik tarama (koni/plaka)		
Jel	τ= 5 Pa'da ölçülen G' (Pa)	τ= 5 Pa'da ölçülen δ (°)	Çaprazlamada ölçülen τ (Pa)
A (HMDA kontrol)	64	48.2	90
B	318	10.8	510
C	227	18.1	590

Kontrol jel A, bir poliamin (HMDA) ile çapraz bağlanmış olmasına rağmen, hiyalüronik asidin modifikasyon derecesi yüksek olmasına rağmen, mekanik özellikleri zayıf olduğu için yeterli değildir.

Düşük bir modifikasyon derecesine rağmen, B ve C jelleri, diğer yandan, karşılaştırmalı jel A ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde geliştirilmiş bir reolojik davranış sergilerler.

b) A, B ve C jellerinin sterilizasyonuna karşı direnç, T° ≥ 121 °C 'de bir otoklavda (ıslak ısı) gerçekleştirilen bir sterilizasyona maruz kaldıktan sonra bu jellerin elastisite modülü G' (Pa cinsinden) kaybının karakterizasyonu yoluyla belirlenir, böylece bir F0> 15 (sterilizasyon değeri) elde edilir.

Aşağıdaki Tablo 4, ölçülen değerleri göstermektedir.

Tablo 4

	t = 5 Pa'da ölçülen genlik taraması (koni/plaka)
Jel	**Kayıp G' (%)**
A (HMDA kontrol)	%60

Jel	t = 5 Pa'da ölçülen genlik taraması (koni/plaka) Kayıp G' (%)
B	%23
C	%24

Kontrol jeli A, bir kez daha tatmin edici değildir, çünkü jeller B ve C ile karşılaştırıldığında sterilizasyona zayıf direnç gösterir.

5