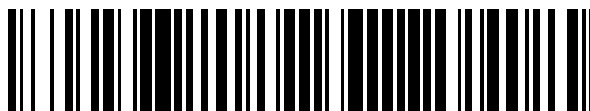


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 850 577**

51 Int. Cl.:

A61K 8/73 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.02.2017 PCT/IB2017/050943**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.08.2017 WO17145035**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2017 E 17716603 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.01.2021 EP 3419590**

54 Título: **Conjugado de ácido hialurónico**

30 Prioridad:

26.02.2016 IT UB20161125

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

30.08.2021

73 Titular/es:

RIBOHYAL S.R.L. (100.0%)

Via Tempio del Cielo 3/5

00144 Rome, IT

72 Inventor/es:

BARICORDI, NIKLA y

CARUSO, CIRO

74 Agente/Representante:

DURAN-CORRETJER, S.L.P

ES 2 850 577 T3

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

DESCRIPCIÓN

Conjugado de ácido hialurónico

5 Sector técnico de la invención

La presente invención se refiere a composiciones que comprenden ácido hialurónico conjugado con riboflavina para la utilización, según las reivindicaciones, en los sectores cosmético y terapéutico.

10 El objetivo de la presente invención es dar a conocer nuevas composiciones a base de ácido hialurónico que solucionen las desventajas relacionadas con la utilización de las actuales composiciones a base de ácido hialurónico.

Estado de la técnica anterior

15 Los tratamientos relacionados con la utilización de materiales de relleno ("fillers") para corregir las imperfecciones faciales se han vuelto cada vez más frecuentes en los últimos años al buscar de indicaciones específicas en diferentes situaciones y al representar una alternativa válida a operaciones quirúrgicas no siempre aceptadas o posibles, tales como lifting frontal, cirugía plástica malar (aumento quirúrgico del cigoma), cirugía plástica del mentón y queiloplastia (aumento de labios).

20 Los primeros materiales de relleno utilizados, aparte de silicona líquida, ilegal desde hace ya muchos años, eran materiales de relleno a base de colágeno de bovino y se introdujeron en la práctica clínica en los años 80; permitieron buenos resultados, pero necesitaban pruebas preliminares de alergia. Posteriormente, se estudiaron otras sustancias con el objetivo de evitar las pruebas preliminares y aumentar la residencia y eficacia del producto. Dependiendo de la duración del tiempo, de forma esquemática, se puede hablar de materiales de relleno reabsorbibles, materiales de relleno semipermanentes y materiales de relleno permanentes. Los materiales de relleno permanentes e incluso los semipermanentes pueden crear, con el tiempo, incluso, reacciones inflamatorias graves, pueden desplazarse y llegar a la superficie provocando problemas y deformidades que no siempre se pueden controlar, lo que limita enormemente la utilización de los mismos por motivos estéticos.

25 Por estas razones, ya desde hace varios años, los materiales de relleno utilizados más frecuentemente han sido materiales de relleno a base de ácido hialurónico, totalmente biocompatibles y sin riesgo de alergias, reabsorbibles, que no implican reacciones inflamatorias después de mucho tiempo.

30 Los materiales de relleno se pueden utilizar con diferentes finalidades a efectos de obtener un efecto de relleno, es decir, aumentar los volúmenes. En la primera aplicación, reducen o eliminan tanto las arrugas superficiales como las profundas, además de las depresiones del grosor de la piel de diferente origen: la inyección por debajo del defecto lo relaja y nivela de forma muy natural. Por el contrario, cuando se utilizan para aumentar volúmenes se aplican en diferentes sitios. Los labios se pueden mejorar resaltando el contorno y el diseño de los mismos, haciéndolos más armoniosos en su conjunto, sin modificar el volumen de los mismos, es decir, pueden aumentarse cuando son demasiado delgados. Los ángulos de la boca se pueden rellenar y elevar dando una aspecto más relajado y tranquilo a la cara y eliminando el aspecto triste. El cigoma se puede aumentar dándole más carácter a la cara proporcionándole un aspecto más joven. El mentón se puede modificar tanto en la forma (por ejemplo, redondeándolo si es demasiado puntiagudo y viceversa) como en la proyección (en caso de un mentón retraído). El contorno mandibular se puede modificar armonizando el perfil sobre todo en la parte delantera o modificando ligeramente la forma ovalada resaltando la zona del ángulo posterior haciendo la cara más "volitiva". Se puede obtener una mayor reintegración de los volúmenes con una distribución más homogénea de los productos extendidos incluso a las mejillas con un "efecto rejuvenecedor y sin lifting médico quirúrgico" mediante la utilización de mayores cantidades de producto inyectándolo con microcánulas adecuadas. Según el sitio, se pueden utilizar productos de diferente tipo y con diferente composición.

35 El ácido hialurónico con más 10 millones de tratamientos realizados en la actualidad es la sustancia más utilizada habitualmente como "material de relleno", es decir, la "sustancia de relleno", indicando bajo dicho término los implantes inyectables utilizados para corregir arrugas, surcos, depresiones y para aumentar el volumen de labios, regiones cigomáticas, contorno mandibular y de otras zonas de la cara. El ácido hialurónico es una sustancia natural, habitualmente incluida en nuestro organismo, como componente de la matriz extracelular; es importante para la formación de la matriz de colágeno y las fibras elásticas y para mantener la hidratación de la piel. En la dermis, de hecho, juega el papel de soportar el andamiaje uniéndose a otras sustancias y proporcionando compactibilidad a la piel, e hidratación, ya que tiene una capacidad elevada de unirse al agua. Las alteraciones del ácido hialurónico contribuyen al envejecimiento de la piel. El mecanismo de acción del ácido hialurónico inyectado como "material de relleno" se debe a las propiedades viscoelásticas del producto, a la capacidad de extracción y retención de agua y a la síntesis *ex novo* de colágeno gracias a la estimulación de los fibroblastos. Los materiales de rellenos a base de ácido hialurónico están constituidos principalmente por un gel cristalino de ácido hialurónico, sintetizado en el laboratorio con diferentes formulaciones, incluso en relación a los sitios en los que se inyecta el producto y al tipo de resultado solicitado. Es un gel estéril, transparente y viscoelástico. Una vez inyectado, el ácido

hialurónico es reabsorbido de forma gradual por el organismo. A medida que se descompone, su lugar es ocupado por agua. Cuando se absorbe por completo, se transforma en agua y dióxido de carbono y desaparece del cuerpo sin dejar rastro. El ácido hialurónico se sintetiza en el laboratorio y no es de origen animal; por estas razones, no existen riesgos de desencadenar reacciones alérgicas en caso de que alguien sea sensible a alimentos comunes, tales como carne de res, pollo y huevos o transmisión de enfermedades.

En los últimos años, se ha desarrollado incluso un producto a base de ácido hialurónico reticulado por el agente de reticulación BDDE (Patente US 8450475). La utilización del mismo figura entre las técnicas estéticas menos invasivas para reducir las arrugas. La técnica con la que se inserta esta sustancia por debajo de la piel es aquella en la que se utilizan materiales de relleno que pueden tener resultados buenos y duraderos en caso de que se utilice el ácido hialurónico reticulado. Sin embargo, la utilización de esta sustancia ofrece resultados temporales, por lo que para prolongar los efectos es necesario someterse de manera periódica a este tipo de tratamiento.

La Patente RU2386640 describe un procedimiento para la preparación de un complejo constituido por una sal de ácido hialurónico reticulada, modificada con riboflavina, caracterizado por que la interacción química del complejo de sal de ácido hialurónico-riboflavina tiene lugar mediante, como mínimo, un agente de reticulación y se realiza exponiendo los reactivos iniciales a una presión en el intervalo de 5 a 1.000 MPa en un reactor mecánico-químico a una temperatura entre 20 y 50 °C.

La Patente WO2015/071873 describe un nanohidrogel constituido por riboflavina derivatizada con un grupo alquilo adecuado para unirse de forma covalente a un polisacárido.

Por tanto, está muy presente el problema de dar a conocer nuevos materiales de relleno que no tengan las desventajas de los materiales de relleno conocidos en el estado de la técnica.

Características de la invención

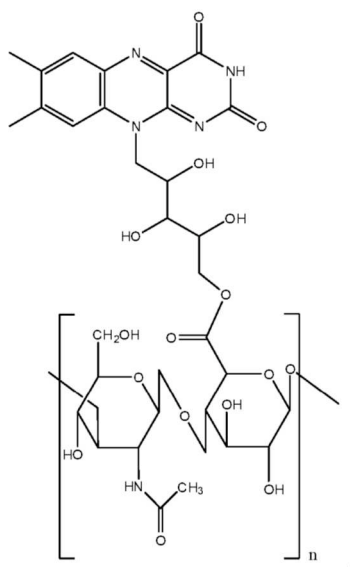
La presente invención se refiere a una composición para la utilización, según las reivindicaciones, que comprende un ácido hialurónico conjugado con riboflavina o derivados de la misma. El conjugado, según la presente invención, a diferencia de los otros productos conocidos, se someterá a reticulación después de haber sido inyectado en la dermis y de forma natural. El conjugado, según la presente invención, tiene, además, las siguientes propiedades importantes:

1. Absorbe rayos UVA y UVB evitando el daño por la agresión de los mismos hasta ahora conocida sobre las fibras de colágeno de la dermis;
2. Produce una reticulación natural a) mediante la formación de una red de fibras de colágeno reforzando y fortaleciendo la dermis y b) mediante la reducción y neutralización de manera selectiva de la producción de radicales libres responsables del envejecimiento de la piel y el envejecimiento cutáneo y c) mediante la estimulación de la neosíntesis de colágeno con la consiguiente mayor duración.

Otras ventajas y características y modos de utilización de la presente invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de algunas realizaciones y a partir de los datos experimentales indicados en la sección de ejemplos, que se muestran a modo de ejemplo y no con fines limitativos.

Descripción detallada de la invención

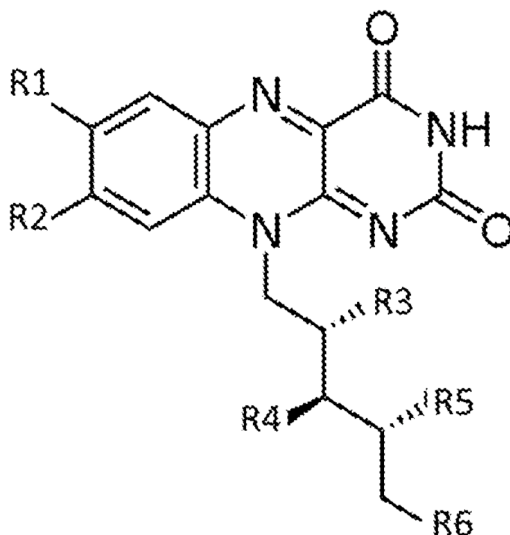
La presente invención se refiere, en primer lugar, a una composición para la utilización, según las reivindicaciones, que comprende un ácido hialurónico conjugado, como mínimo, con riboflavina o un derivado de la misma, en la que el ácido hialurónico está conjugado con la riboflavina mediante un enlace covalente y en la que dicho enlace covalente es un enlace éster entre el grupo carboxílico del ácido hialurónico y el carbono C20 de la riboflavina, según la fórmula estructural (I):



(I)

Tal como se utiliza en el presente documento, el término ácido hialurónico (HA) puede significar cualquier ácido hialurónico o sales de los mismos, e incluye, pero sin limitarse a los mismos, hialuronato de sodio (NaHA), hialuronato de potasio, hialuronato de magnesio, hialuronato de calcio y combinaciones de los mismos.

En la presente descripción, bajo la expresión derivado de riboflavina (o vitamina B₂) se entiende cualquier derivado de riboflavina, por ejemplo flavín mononucleótido (FMN), flavín adenín dinucleótido (FAD). Otros ejemplos de derivados de riboflavina están compuestos según la fórmula que se muestra a continuación:



en la que R1, R2, R3, R4, R5 y R6 se seleccionan, de manera independiente, entre hidrógeno, hidroxilo, metilo, alquínilo C2-C6 sustituido de manera opcional, arilo sustituido de manera opcional, alquil C1-C6-arilo sustituido de manera opcional, arilalquilo C1-C6 sustituido de manera opcional, heteroarilo sustituido de manera opcional, alquil C1-C6-heteroarilo sustituido de manera opcional, heteroarilalquilo C1-C6 sustituido de manera opcional, alquénil C2-C6-arilo sustituido de manera opcional, arilalquénil C2-C6 sustituido de manera opcional, alquénil C2-C6-heteroarilo sustituido de manera opcional, heteroarilalquénil C2-C6 sustituido de manera opcional, cicloalquilo C3-C8 sustituido de manera opcional, heterocicloalquilo sustituido de manera opcional, alquil C1-C6-cicloalquilo C3-C8 sustituido de manera opcional, cicloalquil C3-C8-alquilo C1-C6 sustituido de manera opcional, alquil C1-C6-heterocicloalquilo sustituido de manera opcional y heterocicloalquilalquilo C1-C6 sustituido de manera opcional, alquilo, alquénilo, alquínilo, cicloalquilo C3-C8, heterocicloalquilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, alquilocicloalquilo, amino, aminosulfonilo, halógeno, flúor, cloro, bromo y yodo o combinaciones de los mismos.

El ácido hialurónico se conjuga con la riboflavina mediante un enlace covalente. Dicho enlace covalente es un enlace éster entre el grupo carboxílico del ácido hialurónico y el carbono C20 de la riboflavina, dicha conjugación,

por ejemplo, podría obtenerse utilizando carbodimida (EDC). La fórmula molecular del ácido hialurónico con riboflavina es $(C_{31}H_{39}N_5O_{16})_n$ y su nombre IUPAC es 3-(((2R,3R,4R,5S,6R)-3-acetamido-4,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)tetrahydro-2H-piran-2-il)metoxi)-4,5,6-trihidroxitetrahydro-2H-piran-2-carboxilato de 5-(7,8-dimetil-2,4-dioxo-3,4-dihidrobenczo[g]pteridin-10(2H)-il)-2,3,4-trihidroxipentilo. La fórmula estructural que representa el conjugado es la estructura de fórmula (I) mencionada anteriormente, en la que la unidad de disacárido está representada de manera que se repite n veces en la estructura del ácido hialurónico, por ejemplo, en la que n está comprendida entre 10 y 1.000.000 veces, o 100 y 10.000 veces.

Según una realización, el grado de sustitución de riboflavina en los ésteres está comprendido entre el 2 % y el 7 %, en el que la expresión "grado de sustitución" designa el número de moles de riboflavina por mol de glicosaminoglicano.

Según una realización, los ésteres obtenidos a partir de la conjugación de ácido hialurónico con riboflavina tienen un peso molecular comprendido entre 250.000 y 800.000 Dalton, designando bajo este intervalo el peso molecular promedio del glicosaminoglicano sin considerar la contribución del peso de riboflavina.

La presente invención se refiere a conjugados en los que el ácido hialurónico está unido de manera exclusiva a la riboflavina y conjugados en los que el ácido hialurónico o la riboflavina están unidos también a otras moléculas, por ejemplo, a otras vitaminas. La expresión ácido hialurónico conjugado, como mínimo, con riboflavina en la presente descripción designa, por tanto, un conjugado que consiste en ácido hialurónico unido mediante un enlace covalente a riboflavina y un conjugado que comprende ácido hialurónico unido a riboflavina, en el que el ácido hialurónico y/o la riboflavina pueden estar unidos incluso a otras moléculas.

La presente invención también se refiere a un procedimiento para la preparación del ácido hialurónico conjugado con riboflavina que comprende una etapa de activación de la función carboxílica del ácido hialurónico con una carbodiimida (EDC). Después de la activación, el ácido hialurónico reaccionará con la riboflavina formando el éster correspondiente.

Según una realización, el procedimiento de preparación proporcionará una etapa en la que la sal de ácido hialurónico, en particular hialuronato de sodio, se disuelve en agua y el gel se lleva a un pH comprendido entre 3,5 y 4,5 con HCl, de manera preferente, 0,1 N; se activa la función carboxílica del ácido hialurónico mediante la utilización de una carbodiimida (EDC), a continuación, se hace reaccionar con riboflavina a una temperatura comprendida entre 8 y 12 °C. La riboflavina no se utiliza como tal, sino que, a efectos de disolverla en agua, se transforma en un complejo de boro soluble en medio acuoso. La mezcla se deja en agitación durante 1-2 horas, a continuación, se precipita el producto mediante la adición de cloruro de sodio y etanol.

Para la preparación del conjugado de ácido hialurónico-riboflavina como material de partida, se podría utilizar un ácido hialurónico de alto o bajo peso molecular, de manera preferente, se utilizará ácido hialurónico obtenido mediante síntesis bacteriana (biofermentación) que proporciona una menor posibilidad de reacción alérgica que el de origen animal. Un experto en la materia conoce varios procedimientos para obtener ácido hialurónico a partir de síntesis bacteriana, tal como se describe, por ejemplo, en la patente EP0137786. Podría utilizarse, incluso, ácido hialurónico de origen animal, de síntesis química, ácido hialurónico reticulado o combinaciones de los mismos. En la Patente US 8450475 se describen ejemplos de ácido hialurónico reticulado mediante el agente de reticulación BDDE.

La expresión ácido hialurónico de alto peso molecular en el presente documento describe un ácido hialurónico que tiene un peso molecular comprendido entre 1,0 millones de Daltons y aproximadamente 4,0 MDa. Por ejemplo, el alto peso molecular del ácido hialurónico podría tener un peso molecular de aproximadamente 2,0 MDa. En otro ejemplo, puede tener un peso molecular de aproximadamente 2,8 MDa.

La expresión ácido hialurónico de bajo peso molecular en el presente documento describe un ácido hialurónico que tiene un peso molecular inferior a aproximadamente 1,0 MDa. El ácido hialurónico de bajo peso molecular puede tener un peso molecular comprendido entre aproximadamente 200.000 Da (0,2 MDa) y menos de aproximadamente 1,0 MDa, por ejemplo, entre aproximadamente 300.000 Da (0,3 MDa) y aproximadamente 750.000 Da (0,75 MDa).

La presente invención también se refiere a composiciones que comprenden el conjugado de ácido hialurónico, según cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, y/o uno o más portadores y/o excipientes y/o diluyentes y/o principios activos.

Dependiendo de la utilización, la composición podría tener diferentes formulaciones, por ejemplo en forma de gel, suspensión, solución (en particular, solución acuosa), cápsula, comprimido, píldora, granulado, polvo, colirio, champú, loción, materiales de relleno (composiciones que se inyectan en la dermis o en el tejido subcutáneo), pulverizador.

En una realización, la composición, tal como se describe en el presente documento, en cualquiera de las realizaciones ilustradas anteriormente, podría estar en forma de composición farmacéutica, es decir, que incluye

ingredientes de grado farmacéutico o podría ser o podría insertarse en un dispositivo médico.

La composición, según la presente descripción, podría implementarse en forma de composición farmacéutica o dispositivo médico según cualquiera de las clases descritas en la Directiva 93/42/CEE sobre los dispositivos médicos (que comprenden incluso sustancias y no sólo los "dispositivos" en el sentido mecánico del término), o en forma de complemento alimenticio o en cualquier forma según las disposiciones que regulan el país en el que se producirá dicha composición.

Según una realización preferente, la composición incluirá el conjugado de ácido hialurónico en una concentración entre el 2 % y el 3 % en peso de la composición. Según una realización preferente, la composición es un gel con conjugado de ácido hialurónico y reticulado con una viscosidad entre 200.000 y 300.000 mPa·s.

Según una realización, la composición incluirá el conjugado en una proporción de ácido hialurónico/riboflavina igual a 24 mg/ml/1 mg/ml.

La presente invención también se refiere a un kit que comprende una composición, según cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, en forma de gel, suspensión y/o una o más jeringas, ya llenas o no, con dichas composiciones, y/o una o más agujas adecuadas para administrar dichas composiciones, por ejemplo agujas: 27 G ½ o 30 G ½, según la viscosidad del gel.

La característica propia del ácido hialurónico es la capacidad de insertarse muy bien en los tejidos en los que se inyecta y de rellenarse de forma muy natural. En su formulación en gel, esta sustancia permite un mejor llenado y un buen nivel de penetración. Esta característica la hace adecuada para rellenar surcos y depresiones (surcos nasolabiales, surcos labio-mentón, surco nasoyugal) y los labios que requieren un aumento de volumen o una ligera modificación en el diseño. La duración del producto varía según la densidad y la estructura del producto desde un mínimo de 4-6 meses para productos fluidos (de bajo peso molecular y/o de cadena corta y/o menos viscosos) y correcciones superficiales hasta un máximo de 12 meses para productos consistentes (de alto peso molecular y/o de cadena larga y/o más viscosos) y correcciones profundas.

El procedimiento mediante el que se utiliza el ácido reticulado para nivelar las arrugas y las imperfecciones es el del material de relleno. Esta técnica consiste en utilizar jeringas en las que se inserta el ácido hialurónico, en particular, en forma de gel.

Como tratamiento estético se lleva a cabo en el departamento de atención ambulatoria y en una sola sesión que dura aproximadamente media hora. La técnica consiste en inyectar el gel de ácido hialurónico reticulado en el interior de la piel mediante microinyecciones. Las zonas habitualmente seleccionadas para este tipo de tratamiento contra las arrugas son cigoma, contorno de ojos, labios y mejillas. Quien sea muy sensible al dolor puede utilizar una pomada anestésica poco antes de las inyecciones.

Los resultados se pueden apreciar inmediatamente al final del tratamiento.

Si se inyecta de manera correcta en las cantidades "correctas" y en los sitios adecuados, los resultados son muy naturales y no son espurios en absoluto. Además es posible dividir la operación en varias sesiones para buscar el efecto deseado de manera gradual y así mejorar los resultados de la misma. El resultado depende en gran medida de la situación inicial, como en todos los tratamientos de cirugía y medicina estética. Por lo tanto, es muy importante que el cirujano y el paciente discutan sobre las posibilidades y los límites de los resultados deseados.

En el caso de las arrugas nasolabiales ligeramente marcadas, con simple depresión en los lados de las fosas nasales, los resultados pueden ser muy satisfactorios y se pueden obtener en una sola sesión. Por el contrario, en el caso de arrugas nasolabiales fuertemente marcadas no solo serán necesarias varias ampollas, sino incluso varias sesiones, para obtener el resultado deseado. Debe entenderse bien que los materiales de relleno no son una alternativa a un lifting real, pero pueden contribuir a mejorar el aspecto global de la cara.

En lo que se refiere a los labios, es posible resaltar el contorno de los mismos haciendo que el bermellón sea más armonioso y bello, agrandando ligeramente el volumen de una manera muy natural con una o dos ampollas de producto en una sola sesión. En el caso de labios muy pequeños y delgados, si se desea un cambio más significativo, manteniendo el equilibrio adecuado y un aspecto natural, es necesario utilizar, como mínimo, dos ampollas y, a menudo, repetir la sesión después de 2-3 semanas para obtener el resultado deseado. De esta forma, es posible controlar de manera gradual el aumento evitando cambios bruscos en el aspecto y reduciendo el riesgo de edema inflamatorio.

En la matriz amorfa de un tejido conectivo, el conjugado de ácido hialurónico, según la presente invención, es responsable de mantener el nivel de hidratación, turgencia, plasticidad y viscosidad, ya que se sitúa en el espacio en una forma agregada al absorber un número considerable de moléculas de agua. También es capaz de actuar como sustancia de cemento y como molécula antichoque, así como agente lubricante eficaz (por ejemplo, en el líquido sinovial) evitando que las células de los tejidos resulten dañadas por el estrés físico.

La longitud extrema de la molécula junto con su alto nivel de hidratación permite que se organicen varios polímeros de conjugado de ácido hialurónico y formen una estructura de tipo reticular que tiene dos funciones principales: crear un andamiaje molecular para mantener la forma y el tono del tejido; operar como filtro contra la diseminación libre de sustancias particulares, bacterias, agentes infecciosos en el tejido. Sólo las sustancias que tienen un peso molecular suficientemente bajo para poder atravesar las "mallas" de esta red podrían extenderse libremente en el tejido; todas las sustancias con mayor peso molecular, así como las bacterias o virus, quedarán atrapadas en la red.

Según una realización, las inyecciones de conjugado de ácido hialurónico, según la presente invención, se utilizan junto con inyecciones de proteínas de colágeno en cirugía y dermatología estética para eliminar arrugas y prevenir el envejecimiento de la piel. En cirugía de oído, el conjugado de ácido hialurónico se utiliza para regenerar membranas timpánicas perforadas, en cirugía oftálmica, para producir gotas de lágrimas artificiales, colirios en jeringas para intervenciones en el cuerpo vítreo del ojo, en cirugía de cataratas, glaucoma, trasplantes oculares y, además, como colorante, en artrología, como agente lubricante antiflogístico y agente de conservación del líquido sinovial de las articulaciones. Estudios recientes demuestran que puede unirse a los receptores CD44 de las células de los folículos pilosos favoreciendo la división de las mismas y la producción de cabello. También se utiliza contra inflamaciones y lesiones ulcerosas de la boca (aftas, estomatitis, etc.), en especial, aquellas como consecuencia de la quimioterapia y la radioterapia, reduciendo de forma inmediata el dolor y favoreciendo la cicatrización de las mismas. Según una realización, el producto se presenta en forma de gel, pulverizador o colutorio. Por ejemplo, el gel o pulverizador se utilizará directamente sobre las zonas ulcerosas, en caso de dolor persistente se puede utilizar incluso varias veces al día sin ninguna contraindicación o efecto secundario, aparte de alergias específicas. En dermatología doméstica, el conjugado de ácido hialurónico es el componente principal de varios productos comerciales tópicos en la categoría de los materiales de relleno y/o cremas faciales, para utilizar durante el día o más a menudo durante la noche. Los excipientes de las diversas composiciones son muy similares entre ellos, pero se pueden utilizar en diferentes porcentajes conocidos por el experto en la materia. Un ejemplo son los agentes hidratantes, ácidos carboxílicos de cadena larga (omega-3), benzoato de sodio o potasio, alcoholes y muchos otros.

El conjugado de ácido hialurónico se puede utilizar: en el humor vítreo del ojo, en el líquido sinovial, en la piel, en el cartílago, en los tendones, en el cordón umbilical, en las paredes de la aorta. El conjugado de ácido hialurónico, de manera preferente, de origen biotecnológico, con efecto de relleno y con efecto para utilización cutánea en forma de cremas y/o gel se inserta entre arrugas y pliegues cutáneos. Una vez posicionado explota la transpiración cutánea fisiológica reteniendo el agua y, en consecuencia, aumentando la hidratación epidérmica, aumenta aún más el volumen de la misma; el aumento de tamaño implica un relleno de los surcos cutáneos, en consecuencia, una acción de alisado de la piel gracias a un fenómeno de reticulación natural y a la acción de reticulación del conjugado, según la presente invención.

El conjugado, según la presente invención, proporciona a los productos en los que se incorpora una importante acción contra las arrugas y una acción hidratante con percepción sensorial inmediata. La molécula está provista de varios estudios y ensayos realizados en voluntarios, en los que se deduce que, además de una percepción sensorial inmediata de la acción de la crema y/o gel y/o del material de relleno ya transcurrida una hora desde la aplicación, hay una disminución en la evidencia de arrugas en un 35 %.

Según una realización, el producto en forma de crema y/o gel se reconstituye mediante un conjugado de ácido hialurónico con un peso molecular muy bajo (1.000 a 3.000 Dalton) capaz de penetrar la piel y de llevar a cabo desde el interior las funciones descritas anteriormente. Este peso molecular específico permite una fácil absorción por la epidermis para equilibrar la hidratación de la misma y mejorar la estabilidad de la piel de la misma. Esto mejora la cohesión de las células y el efecto barrera de la piel.

Incluso se describen en el presente documento un procedimiento cosmético o terapéutico para el tratamiento de arrugas y otros signos de envejecimiento cutáneo, que comprende la etapa de administrar, en particular, por vía intradérmica, el conjugado de ácido hialurónico, según la presente invención.

Las composiciones descritas anteriormente podrían utilizarse como soluciones y/o colirios oftálmicos para utilización lubricante, trófica, citoprotectora, citorreparadora, podrían utilizarse, además, para el tratamiento de la ectasia corneal en el queratocono, en forma de colirio y/o soluciones oftálmicas en jeringas ya rellenas para utilizar en el tratamiento de la reticulación corneal como agente fotosensibilizante como agente fotoprotector de las estructuras oftálmicas, desde la córnea hasta la retina.

Según una realización, el conjugado de la presente invención se utilizará en un colirio en asociación con fármacos o preparados naturales para su administración en el ojo en forma de gotas. Por ejemplo, en colirios destinados a tratar patologías oftálmicas (por ejemplo, glaucoma, uveítis, etc.) o destinados a curar trastornos oculares de naturaleza no patológica (por ejemplo, ojos rojos, ojos secos, etc.). Otros ejemplos son:

Colirios antihistamínicos: acción de refuerzo descongestivo, designados para el tratamiento de las alergias estacionales y las reacciones alérgicas a fármacos u otras sustancias.

Colirios contra la sequedad ocular: estos tipos de colirios se enriquecen con sustancias humectantes, necesarias

para garantizar el nivel de humedad correcto en el ojo.

5 Colirios contra los ojos rojos: estas formulaciones habitualmente no requieren receta, ya que están destinadas a curar un trastorno transitorio, unido, por ejemplo, a las agresiones del aire o a la penetración de un cuerpo extraño en el ojo (por ejemplo, pestaña o lente de contacto). Colirios enriquecidos con principios activos esteroideos: son potentes fármacos antiinflamatorios oculares, adecuados en caso de fenómenos flogísticos (inflamatorios) graves, que no pueden curarse con otros fármacos de acción más moderada.

10 Colirios para el tratamiento de glaucoma: son preparados farmacológicos dirigidos a reducir la presión intraocular. Se recuerda brevemente que el glaucoma es un trastorno caracterizado por una alteración de la presión en el interior del ojo.

15 Colirios con efecto midriático: estos tipos de colirios se utilizan principalmente con fines diagnósticos, con el objetivo de expandir la pupila para facilitar la exploración de las estructuras oculares de la misma. A veces se utilizan, incluso, en la terapia descongestiva en el contexto conjuntival.

Colirios con acción protectora NCE con propiedades contra rayos UVA (radiaciones ultravioleta de tipo A y de tipo B, luz azul, rango de espectro de luz de 200 nm a 500 nm).

20 Según una realización, el colirio para utilizar en el tratamiento de la irritación, enrojecimiento, congestión y prurito ocular provocados por causas alérgicas, químicas o físicas (humos, polvos, luces intensas, reflexión solar o de la nieve) será una solución en un frasco que comprende, aparte del conjugado descrito en el presente documento, clorhidrato de tetrizolina, por ejemplo en una concentración de 50 mg por 100 ml; excipientes, por ejemplo, agua destilada de manzanilla, agua destilada de cal, fosfato sódico dodecahidratado, hidrogenofosfato de potasio, cloruro sódico, edetato sódico, polisorbato 80, cloruro de benzalconio, agua purificada.

25 Según una realización alternativa, será una solución en un recipiente de dosis única que comprende, aparte del conjugado descrito en el presente documento, clorhidrato de tetrizolina, por ejemplo, en una concentración de 50 mg para 100 ml; agua; excipientes, por ejemplo, fosfato de sodio dodecahidratado, fosfato de sodio monobásico, edetato sódico, cloruro sódico, agua purificada.

30 Los colirios válidos, fabricados de manera adecuada para combatir la sequedad ocular (mejor definida como xerosis), tienen que imitar las características del moco lagrimal, deben ser ligeramente alcalinos, isotónicos con la película lagrimal y, naturalmente, sin conservantes. Para este fin, las pequeñas ampollas monodosis de colirio (para utilizar una vez) que contienen mucopolisacáridos (por ejemplo, conjugado de ácido hialurónico), polímeros de síntesis (por ejemplo, alcohol polivinílico, povidona, carbopol, macrogol) y sustancias mucomiméticas, tales como galatoxiglucano, parecen ser particularmente útiles.

35 A efectos de prevenir la sequedad ocular, a veces, se recomienda aplicar las denominadas lágrimas artificiales, un tipo de colirio formulado con sustancias viscosas capaces de sustituir el líquido lagrimal.

40 Según una realización recomendada en el tratamiento del síndrome del ojo seco, la composición es una solución en un frasco, en el que hay 1 ml de colirio, la solución incluye: principio activo: sal sódica de conjugado de ácido hialurónico (2 mg), excipientes: cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de sodio monobásico monohidratado, fosfato de disodio dodecahidratado, agua purificada. La solución en envase monodosis: principio activo: 2 mg de sal sódica de conjugado de ácido hialurónico; cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de sodio monobásico monohidratado, fosfato de disodio dodecahidratado, agua purificada.

45 Los ojos rojos constituyen una afección bastante común después de exposiciones prolongadas a fuentes de luz (por ejemplo, lámparas de bronceado, faros de xenón, etc.), agentes atmosféricos (aire, sol, contaminación atmosférica) o después de muchas horas de trabajo o lectura intensa.

50 Los ojos rojos, sensación de ardor, lagrimeo y sequedad propios de estas circunstancias tienden a resolverse cuando se elimina la causa que ha determinado el trastorno. Sin embargo, en presencia de ojos especialmente sensibles, algunos tipos de colirio pueden acelerar la recuperación: se prefieren preparados oculares enriquecidos con sustancias descongestivas y emolientes, tales como *Euphrasia* y manzanilla.

55 Según una realización, la composición es una solución en frasco: 1 ml de colirio, la solución incluye: principio activo: 2 mg de sal sódica de conjugado de ácido hialurónico, *Euphrasia* y manzanilla; excipientes: cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de sodio monobásico monohidratado, fosfato de disodio dodecahidratado, agua purificada. Según una realización alternativa, la composición es una solución en envase monodosis: principio activo: 2 mg de sal sódica de conjugado de ácido hialurónico, *Euphrasia* y manzanilla; cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de sodio monobásico monohidratado, fosfato de disodio dodecahidratado, agua purificada.

60 Para el tratamiento de todos los fenómenos inflamatorios graves del ojo, los colirios más adecuados son los formulados con corticosteroides, en cuyo caso está soportado por una terapia tópica con colirio antibiótico.

La formulación de los colirios esteroides es bastante compleja debido a la escasa solubilidad de los principios activos en agua: a efectos de obviar este inconveniente, los fármacos que son poco solubles en disolvente acuoso, se administran en forma de suspensión (sistemas termodinámicamente inestables, que tienden a la sedimentación y agregaciones, que requieren su agitación antes de la utilización).

Los principios activos utilizados más habitualmente para preparar este tipo de colirios son: cortisona, fluorometolona, hidrocortisona y desametasona.

Según una realización, los colirios esteroides son una solución en un frasco de 1 ml que contiene: principio activo: 2 mg de sal sódica de conjugado de ácido hialurónico y (fluorometolona o hidrocortisona o desametasona); excipientes: cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de sodio monobásico monohidratado, fosfato de disodio dodecahidratado, agua purificada. La solución en envase monodosis: principio activo: 2 mg de sal sódica de conjugado de ácido hialurónico y (fluorometolona o hidrocortisona o desametasona); cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de sodio monobásico monohidratado, fosfato de disodio dodecahidratado, agua purificada.

Los colirios enriquecidos con principios activos antibióticos son adecuados para el tratamiento de todas las formas infecciosas del ojo, en general, y de la conjuntiva, en particular. Con este fin, se utilizan, en especial, COLIRIOS ANTIBIÓTICOS y ANTIVIRALES en el tratamiento de la conjuntivitis bacteriana/vírica y la uveítis infecciosa.

Estos tipos de colirios, que requieren prescripción médica, se seleccionan en función del patógeno responsable de la infección. Por ejemplo, para el tratamiento de una infección ocular soportada por *Pseudomonas pyocyanea*, el colirio más adecuado es el formulado con gentamicina; el ácido fusídico, en cambio, se recomienda para la conjuntivitis bacteriana debido a *Staphylococcus*. Según una realización, la solución en el frasco: 1 ml de colirio, la solución incluye: principio activo: 2 mg de sal sódica de conjugado de ácido hialurónico y (ANTIBIÓTICO, poner la mayor cantidad posible de ellos); excipientes: cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de sodio monobásico monohidratado, fosfato de disodio dodecahidratado, agua purificada. En la solución en un envase monodosis: principio activo: 2 mg de sal sódica de conjugado de ácido hialurónico y (ANTIBIÓTICO, poner la mayor cantidad posible de ellos); cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de sodio monobásico monohidratado, fosfato de disodio dodecahidratado, agua purificada.

Por el contrario, los colirios antivirales más utilizados se preparan con diclofenaco o ketorolaco, sustancias activas pertenecientes a la clase de los AINE (fármacos antiinflamatorios no esteroideos) útiles para mitigar los síntomas de la infección. Cuando la infección ocular va acompañada de una inflamación marcada, se recomienda combinar el tratamiento con antibiótico con otro tipo de colirio a base de corticosteroides. Incluso existen algunos tipos de colirios que incluyen una mezcla de principios activos antibióticos + antiinflamatorios. Solución en el frasco: 1 ml de colirio, la solución incluye: principio activo: 2 mg de sal sódica de conjugado de ácido hialurónico y diclofenaco o ketorolaco, excipientes: cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de sodio monobásico monohidratado, fosfato de disodio dodecahidratado, agua purificada.

Según una realización, una solución en un envase monodosis: principio activo: 2 mg de sal sódica de conjugado de ácido hialurónico y diclofenaco o ketorolaco, cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de sodio monobásico monohidratado, fosfato de disodio dodecahidratado, agua purificada.

Colirios para el glaucoma

El glaucoma, definido como el ladrón silencioso de la vista, es una patología ocular insidiosa, difícil de detectar, ya que comienza sin ningún síntoma perceptible.

En general, los primeros síntomas de la enfermedad aparecen cuando la vista ya está amenazada. La utilización de colirios específicos para el tratamiento del glaucoma es necesaria para detener el curso de la enfermedad, minimizando los daños para la vista. Los tipos de colirio más adecuados para combatir el glaucoma son:

Los betabloqueantes, necesarios para reducir la presión alterada dentro del ojo. Estos colirios médicos, que requieren prescripción médica, actúan de forma activa en el humor acuoso, reduciendo la producción del mismo. Los principios activos más utilizados para este fin: metoprolol, timolol y betaxolol.

Análogo de PG (prostaglandinas): después de un tratamiento específico con este tipo de colirios, la presión intraocular se reduce como la pérdida del humor acuoso. Un efecto secundario típico de estos colirios es la hiperpigmentación del iris.

Fármacos simpatomiméticos (por ejemplo, brimonidina, pilocarpina): colirios de segunda calidad para el tratamiento de glaucoma. Los efectos secundarios típicos de estos fármacos (por ejemplo, lagrimeo abundante, hiperemia conjuntival) constituyen un verdadero obstáculo para la terapia; por tanto, este tipo de colirios no siempre son adecuados para tratar la enfermedad.

Según una realización, los colirios para el tratamiento del glaucoma incluirán el conjugado descrito en el presente documento y uno de los principios activos seleccionados entre betabloqueantes, por ejemplo, metoprolol, timolol y betaxolol en un tampón adecuado, por ejemplo, tampón fosfato.

Estos preparados farmacológicos, que se pueden encontrar tanto en forma de colirios como de pomada o gel oftálmico, se recomiendan para el tratamiento de infecciones e inflamaciones de los ojos. Los colirios midriáticos se preparan, en general, con fármacos antagonistas muscarínicos, tales como ciclopentolato, homatropina, fenilefrina y atropina. Cuando se determina una dilatación evidente de la pupila, este tipo de colirio es adecuado incluso para prevenir la formación de sinequias posteriores (adherencias patológicas que se forman en las estructuras internas del ojo) en el contexto de la uveítis.

Según una realización, entre los colirios midriáticos se incluyen el conjugado descrito en el presente documento y fármacos antagonistas muscarínicos, tales como ciclopentolato, homatropina, fenilefrina y atropina en un tampón adecuado, por ejemplo, tampón fosfato.

EJEMPLOS

Ejemplo 1 Preparación del complejo de boro de riboflavina (Riboflavina-B)

Se suspenden 3,76 g de riboflavina en 40 ml de solución de NaOH 0,5 M; se añaden 3,81 g de tetraborato de sodio a la suspensión.

La mezcla se lleva a 40 °C y se deja en agitación durante 1 hora, durante la cual se disuelve toda la riboflavina.

La mezcla de reacción se vierte en 200 ml de acetona, se mantiene en agitación a temperatura ambiente: precipita el complejo de riboflavina-B, a continuación, se filtra y se seca al vacío.

Ejemplo 2 Preparación de un éster de ácido hialurónico con riboflavina

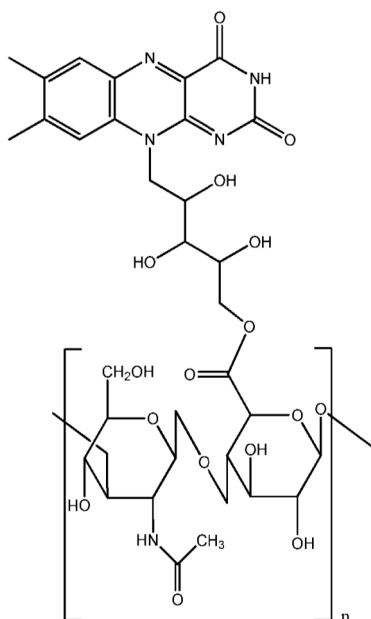
Se disuelven 2,5 g de HA-Na en 250 ml de H₂O destilada.

El pH del gel se lleva a un valor de $4 \pm 0,5$ mediante la adición de una solución de HCl 0,1 N.

El gel se lleva a una temperatura de 10 ± 2 °C mediante inmersión en agua y hielo y se mantiene en agitación; se le añaden 0,2 eq. de EDC y 1 eq. de riboflavina-B en secuencia rápida. La mezcla se deja enfriar con agitación durante 1 hora y 30 minutos.

La reacción se interrumpe mediante la adición de 25 ml de una solución saturada de cloruro de sodio. El producto se precipita mediante la adición de un volumen de etanol al 96 %; se extrae el sobrenadante y el residuo filtrado se lava varias veces con etanol en diferentes concentraciones, a continuación, se seca al vacío.

Fórmula de ejemplo



Ejemplo 3 Preparación de un éster de ácido hialurónico con riboflavina

Se disuelven 2,5 g de HA-Na en 250 ml de H₂O destilada.

El pH del gel se lleva a un valor de $4 \pm 0,5$ mediante la adición de una solución de HCl 0,1 N. El gel se lleva a una temperatura de 10 ± 2 °C mediante inmersión en agua y hielo y se mantiene en agitación; se le añaden 0,2 eq. de EDC y 0,5 eq. de riboflavina-B en secuencia rápida. La mezcla se deja enfriar con agitación durante 1 hora y 30 minutos. La reacción se interrumpe mediante la adición de 25 ml de una solución saturada de cloruro de sodio. El producto se precipita mediante la adición de un volumen de etanol al 96 %; se extrae el sobrenadante y el residuo filtrado se lava varias veces con etanol en diferentes concentraciones, a continuación, se seca al vacío.

Ejemplo 4 Preparación de un éster de ácido hialurónico con riboflavina

Se disuelven 2,5 g de HA-Na en 250 ml de H₂O destilada. El pH del gel se lleva a un valor de $4 \pm 0,5$ mediante la adición de una solución de HCl 0,1 N. El gel se lleva a una temperatura de 10 ± 2 °C mediante inmersión en agua y hielo y se mantiene en agitación; se le añaden 0,2 eq. de EDC y 3 eq. de riboflavina-B en secuencia rápida. La mezcla se deja enfriar con agitación durante 1 hora y 30 minutos. La reacción se interrumpe mediante la adición de 25 ml de una solución saturada de cloruro de sodio. El producto se precipita mediante la adición de un volumen de etanol al 96 %; se extrae el sobrenadante y el residuo filtrado se lava varias veces con etanol en diferentes concentraciones, a continuación, se seca al vacío.

Es posible la formación de reticulaciones de HA consigo mismo durante la síntesis. Es conocido que, en las mismas condiciones de reacción en las que se produce el compuesto con riboflavina, puede tener lugar la formación de una reticulación del ácido hialurónico consigo mismo. Incluso si este derivado no se cuantifica, no altera de forma considerable la composición y las características del producto final.

Ejemplo 5 Evaluación de la producción de O-(oxígeno singlete) mediante RMN

A efectos de evaluar la producción de oxígeno singlete por el conjugado descrito en el presente documento, se decidió insertar la sustancia debidamente diluida en una cubeta que había sido irradiada durante períodos de tiempo predeterminados con una lámpara de xenón XBO OSRAM 150 W OFR con una lente polarizada colocada a 5 cm de la muestra.

Con las mismas diluciones, se preparó, a continuación, una muestra que contenía solo riboflavina. Para evaluar la producción de O-(oxígeno singlete) como sonda, se seleccionó α -terpineol que, al oxidarse, produce 8-hidroxicarvotanacetona. El compuesto se añadió a ambas soluciones que se mezclaron durante 15 minutos antes de irradiarse.

Como técnica analítica se decidió utilizar RMN a efectos de realizar un análisis cualitativo de la oxidación: mientras que en el caso del conjugado descrito en el presente documento, se observa una disminución considerable de los picos de α -terpineol, en el caso de la riboflavina tal cual, se pueden observar todavía picos del compuesto no oxidado.

Ejemplo 6

Aunque no se quiera vincular la presente invención a ningún mecanismo de acción, en lo sucesivo se muestra una descripción detallada del mecanismo de acción de la acción combinada de riboflavina + rayos UVA en el conjugado descrito en el presente documento.

La dermis tiene varias capas de fibras de colágeno y la existencia de las denominadas "reticulaciones" que aumentan la rigidez estructural de la propia dermis.

La reticulación (CXL) con riboflavina (vitamina B2), de forma breve designada con la palabra CXL, es una nueva técnica para el tratamiento de tejidos que se caracterizan por la presencia de fibras de colágeno, tales como dermis y/o córnea, y consiste en la administración combinada de riboflavina y la irradiación con rayos ultravioleta (UVA) para fortalecer el propio tejido sometido a dicho tratamiento.

El objetivo final de estos tratamientos conservantes es posiblemente posponer y detener el agotamiento progresivo y la degeneración de las fibras de colágeno. Mediante la utilización de luz UVA y con la protección de la riboflavina se crean nuevos enlaces entre las moléculas de colágeno adyacentes para que el tejido dérmico, lleno de colágeno, vuelva a adquirir rigidez.

La "reticulación" del colágeno mediante riboflavina y rayos UVA inducidos consiste en la fotopolimerización de las fibrillas de colágeno del estroma con el fin de aumentar la rigidez del mismo y la resistencia a la degeneración progresiva del tejido.

La reticulación del colágeno pretende prevenir y tratar algunos mecanismos fisiopatológicos, entre los más importantes, que provocan el envejecimiento, por haber demostrado:

- 5 • un efecto de aumentar la resistencia y la estabilidad biomecánica de los tejidos llenos de colágeno.
- un efecto de aumentar el diámetro fibrilar del colágeno
- una repoblación celular a partir de las capas profundas (número entero en cuanto a células).

10 Este mecanismo de repoblación es la base de la duración en el tiempo del fenómeno de reticulación. En conclusión, la reticulación puede ser una reacción del colágeno que determina un aumento de las conexiones intrafibrilares e interfibrilares con un aumento de la rigidez y resistencia tisular mediante la combinación de una sustancia fotosensible (riboflavina-vitamina B2) y las radiaciones ultravioleta de tipo A (UV-A). La solución de riboflavina tiene la función de absorber la radiación de luz UV-A emitida y de ejercer una función física de barrera protectora para las

15 estructuras inferiores. Dicho efecto barrera se ejerce sobre todo en las capas anterior e intermedia del estroma dérmico. La aplicación combinada de riboflavina (vitamina B2) + UV-A (370 nm, 3 mW/cm²) tiene como finalidad la activación de radicales libres de oxígeno (O₂⁻) que inducen una desaminación oxidativa del colágeno y la consecuente formación de nuevos puentes moleculares intrahelicales e interfibrilares. Dicho efecto se puede

20 cuantificar en un aumento del diámetro en nm de fibras de colágeno en un promedio igual al 12 % en el estroma dérmico y en un aumento de la rigidez del tejido. La riboflavina irradiada, en el procedimiento descrito, tiene un doble papel:

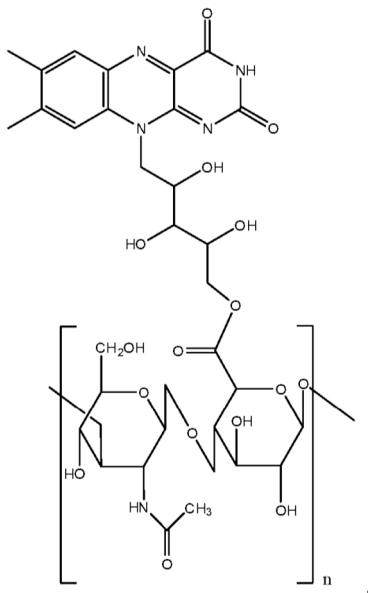
- 25 - permitir la formación de un oxígeno singlete radical (O₂⁻);
- absorber la radiación de luz emitida, permitiendo así concentrar el efecto en una profundidad deseada del tejido y proteger las estructuras biológicas más profundas de daños irreversibles.

30 La riboflavina, cuando es alcanzada por la luz, se somete a una reacción de fotólisis que produce el desprendimiento de un radical ribitol y la consiguiente pérdida de la acción vitamínica. El proceso de fotopolimerización comienza con una desaminación oxidativa y la formación de radicales libres de ribitol; estos determinan la formación de enlaces entre filamentos de colágeno adyacentes incluidos dentro de la misma fibrilla.

35 La presente invención se ha descrito hasta ahora con referencia a algunas realizaciones preferentes. Debe entenderse que pueden existir otras realizaciones, todas pertenecientes al mismo núcleo inventivo, tal como se define por el alcance de protección de las reivindicaciones que se describen a continuación.

REIVINDICACIONES

1. Composición para la utilización en un procedimiento de tratamiento de cirugía cosmética, tratamiento de cirugía oftálmica o tratamiento de cirugía otológica o para la utilización en un procedimiento de tratamiento de lesiones ulcerosas de la boca, que comprende un ácido hialurónico conjugado, como mínimo, con riboflavina o un derivado de la misma, en la que el ácido hialurónico está conjugado con la riboflavina mediante un enlace covalente y en la que dicho enlace covalente es un enlace éster entre el grupo carboxílico del ácido hialurónico y el carbono C20 de la riboflavina, según la fórmula estructural (I):



(I)

2. Composición para la utilización, según la reivindicación 1, en la que el peso molecular de dicho conjugado de ácido hialurónico está comprendido entre 200.000 y 5.000.000 de Dalton, en particular, entre 250.000 y 800.000 Dalton, en la que dicho peso molecular es el peso molecular promedio del ácido hialurónico sin considerar la contribución del peso de la riboflavina.
3. Composición para la utilización, según la reivindicación 1 o 2, en la que en dicho conjugado de ácido hialurónico el grado de sustitución de la riboflavina en los ésteres está entre el 2 % y el 7 %.
4. Composición para la utilización, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho ácido hialurónico utilizado para la conjugación con riboflavina es ácido hialurónico obtenido mediante síntesis bacteriana, ácido hialurónico de origen animal, ácido hialurónico reticulado o combinaciones de los mismos.
5. Composición para la utilización, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en forma de gel, suspensión, solución, cápsula, comprimido, píldora, granulado, polvo, colirio, champú, loción, material de relleno, pulverizador y colutorio.
6. Procedimiento para la preparación del conjugado de ácido hialurónico, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende una etapa de activar los grupos carboxilo del ácido hialurónico con una carbodiimida (EDC).
7. Kit para utilización intradérmica que comprende la composición, según la reivindicación 1, en forma de gel, suspensión o líquido y una o más jeringas y/o una o más agujas.

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

5 *Esta lista de referencias citada por el solicitante es únicamente para mayor comodidad del lector. No forman parte del documento de la Patente Europea. Incluso teniendo en cuenta que la compilación de las referencias se ha efectuado con gran cuidado, los errores u omisiones no pueden descartarse; la EPO se exime de toda responsabilidad al respecto.*

Documentos de patentes citados en la descripción

10

- US 8450475 B
- RU 2386640
- WO 2015071873 A
- EP 0137786 A