

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6125509号
(P6125509)

(45) 発行日 平成29年5月10日(2017.5.10)

(24) 登録日 平成29年4月14日(2017.4.14)

(51) Int.Cl.

A 6 1 L 27/20 (2006.01)

F 1

A 6 1 L 27/20

請求項の数 34 (全 50 頁)

(21) 出願番号 特願2014-530798 (P2014-530798)
 (86) (22) 出願日 平成24年9月13日 (2012.9.13)
 (65) 公表番号 特表2014-526342 (P2014-526342A)
 (43) 公表日 平成26年10月6日 (2014.10.6)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2012/055211
 (87) 國際公開番号 WO2013/040242
 (87) 國際公開日 平成25年3月21日 (2013.3.21)
 審査請求日 平成27年9月11日 (2015.9.11)
 (31) 優先権主張番号 61/534,780
 (32) 優先日 平成23年9月14日 (2011.9.14)
 (33) 優先権主張国 米国(US)
 (31) 優先権主張番号 PCT/US2012/052125
 (32) 優先日 平成24年8月23日 (2012.8.23)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 591018268
 アラーガン、インコーポレイテッド
 A L L E R G A N, I N C O R P O R A T
 E D
 アメリカ合衆国92612カリフォルニア
 州アーヴィン、デュポン・ドライブ252
 5番
 (73) 特許権者 514065221
 スミット・パリワル
 S u m i t P A L I W A L
 アメリカ合衆国93117カリフォルニア
 州ゴリータ、ダベンポート・ロード722
 ○番
 (74) 代理人 100101454
 弁理士 山田 駿二

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】酸化防止剤を含む皮膚充填剤組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

皮膚充填剤組成物であって、
 架橋成分と架橋結合されたヒアルロン酸成分と、
L - アスコルビン酸 2 - グルコシド (A A 2 G) およびリン酸 3 - アミノプロピル - L
- アスコルビルからなる群から選択される添加剤と、を含み、
前記ヒアルロン酸成分は、前記添加剤に化学的に結合され、
前記組成物は、最大 2 0 0 P a の G ' 値を有し、
前記組成物は、光透過性である、組成物。

【請求項2】

前記ヒアルロン酸成分は、約 3 モル % ~ 約 4 0 モル % である結合度で、前記添加剤に化学的に結合される、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記ヒアルロン酸成分は、約 3 モル % ~ 約 1 0 モル % である結合度で、前記添加剤に化学的に結合される、請求項2に記載の組成物。

【請求項4】

前記架橋成分は、1 , 4 ブタンジオールジグリシジルエーテル (B D D E)である、
 請求項1 ~ 3 のいずれかに記載の組成物。

【請求項5】

麻酔剤をさらに含む、請求項1 ~ 4 のいずれかに記載の組成物。

10

20

【請求項 6】

麻酔剤がリドカインである、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 7】

約 25 Pa ~ 約 150 Pa の G' 値を有する、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 8】

約 40 Pa ~ 約 100 Pa の G' 値を有する、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 9】

約 100 Pa 以下の G' 値を有する、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の組成物。

10

【請求項 10】

約 40 Pa 以上の G' 値を有する、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 11】

患者の皮膚における細線を治療するための、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 12】

顔面の審美的外観を改善するための注入可能な皮膚充填剤組成物であって、患者の皮膚領域に投与され、光透過性であり、

AA2G およびリン酸 3 - アミノプロピル - L - アスコルビルからなる群から選択されるビタミン C 誘導体が共有結合された、架橋剤で架橋結合されたヒアルロン酸成分を含み、

20

均一化および中和されており、

最大 200 Pa の G' 値を有する、組成物。

【請求項 13】

前記ヒアルロン酸成分は、約 3 モル % ~ 約 40 モル % である結合度で、前記ビタミン C 誘導体に共有結合される、請求項 12 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記ヒアルロン酸成分は、約 3 モル % ~ 約 10 モル % である結合度で、前記ビタミン C 誘導体に共有結合される、請求項 13 に記載の組成物。

30

【請求項 15】

約 25 Pa ~ 約 150 Pa の G' 値を有する、請求項 12 ~ 14 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 16】

患者の薄い皮膚領域における細線の出現を低減するための皮膚充填剤組成物であって、架橋成分と架橋結合されたヒアルロン酸をベースとし、AA2G およびリン酸 3 - アミノプロピル - L - アスコルビルからなる群から選択されるビタミン C 誘導体を含み、

前記ヒアルロン酸は、前記ビタミン C 誘導体に化学的に結合され、

前記組成物は、最大 200 Pa の G' 値を有し、

前記組成物は、光透過性であり、

前記組成物は、前記患者に、約 1 mm を超えない深さで投与される、組成物。

40

【請求項 17】

約 0.8 mm を超えない深さで注入される、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 18】

約 0.6 mm を超えない深さで注入される、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 19】

約 0.4 mm を超えない深さで注入される、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 20】

約 25 Pa ~ 約 150 Pa の G' 値を有する、請求項 16 ~ 19 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 21】

50

皮膚充填剤組成物であって、
架橋成分と架橋結合されたヒアルロン酸成分と、
少なくとも約3モル%の結合度で、前記ヒアルロン酸成分に共有結合された、AA2G
およびリン酸3-アミノプロピル-L-アスコルビルからなる群から選択されるビタミンC誘導体と、を含み、

前記組成物は、光透過性であり、約40Pa～約100PaのG'値を有する、組成物。

【請求項22】

約18mg/g～約30mg/gのヒアルロン酸濃度を有する、請求項21に記載の組成物。

10

【請求項23】

約12mg/g～約30mg/gのヒアルロン酸濃度を有する、請求項21に記載の組成物。

【請求項24】

前記結合度は、約10モル%である、請求項21～23のいずれかに記載の組成物。

【請求項25】

前記ヒアルロン酸は、少なくとも90%が低分子量HAである、請求項21～24のいずれかに記載の組成物。

【請求項26】

前記ヒアルロン酸成分は、低分子量HAである、請求項21～25のいずれかに記載の組成物。

20

【請求項27】

顔面における細線の出現を低減するための注入可能な組成物であって、前記組成物は、
1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテル(BDDE)架橋結合低分子量ヒアルロン酸(HA)であって、約300Kダルトン～約900Kダルトンの平均分子量を有する、HAと、

前記ヒアルロン酸に共有結合された、AA2Gおよびリン酸3-アミノプロピル-L-アスコルビルからなる群から選択されるビタミンC誘導体であって、結合度が、約10モル%である、ビタミンC誘導体と、を含み、

前記組成物は、約60Pa～約80PaのG'値を有する、組成物。

30

【請求項28】

前記HAは、約300Kダルトン～約500Kダルトンの平均分子量を有する、請求項27に記載の組成物。

【請求項29】

前記組成物は、約80PaのG'値を有する、請求項28に記載の組成物。

【請求項30】

光透過性である、請求項27～29のいずれかに記載の組成物。

【請求項31】

約25mg/gのHA濃度を有する、請求項27～30のいずれかに記載の組成物。

【請求項32】

皮膚充填剤組成物であって、

架橋成分と架橋結合されたヒアルロン酸成分と、

AA2Gおよびリン酸3-アミノプロピル-L-アスコルビルからなる群から選択される添加剤と、を含み、

前記ヒアルロン酸成分は、前記添加剤に化学的に結合され、

前記組成物は、最大200PaのG'値を有し、

前記組成物は、光透過性であり、

前記組成物は、患者の皮膚領域中に投与されるとき、前記添加剤を含まないことを除いて実質的に同一である組成物と比べて、低減されたチンダル現象を示す、組成物。

【請求項33】

40

50

架橋成分と架橋結合されたヒアルロン酸成分と、AA2Gおよびリン酸3-アミノプロピル-L-アスコルビルからなる群から選択される添加剤と、を含み、ここで、前記ヒアルロン酸成分は、前記添加剤に化学的に結合される。

光透過性の、患者の皮膚領域中に皮膚充填剤として投与されるとき、チンダル現象を低減するための組成物；

ここで、チンダル現象は、前記添加剤を含まないことを除いて実質的に同一である組成物と比べて、低減される。

【請求項34】

架橋成分と架橋結合されたヒアルロン酸成分と、AA2Gおよびリン酸3-アミノプロピル-L-アスコルビルからなる群から選択される添加剤と、を含み、ここで、前記ヒアルロン酸成分は、前記添加剤に化学的に結合され、

最大200PaのG'値を有する、

光透過性の、患者の皮膚領域中に皮膚充填剤として投与されるとき、チンダル現象を低減するための組成物；

ここで、チンダル現象は、前記添加剤を含まないことを除いて実質的に同一である組成物と比べて、低減される。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

10

本出願は、2011年9月14日に出願された米国仮特許出願第61/534,780号に対する優先権およびその便益を主張し、また2011年6月3日に出願された米国仮特許出願第61/493,309号に対する優先権およびその便益を主張する2012年6月1日に出願された米国特許出願第13/486,754号の一部継続である、2012年8月23日に出願された米国特許出願第13/593,313号の一部継続であり、これらの出願の各々の開示全体は、この具体的な参考によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

本発明は、一般に、皮膚充填剤組成物に関し、より具体的には、皮膚における細線の治療に有効である注入可能な皮膚充填剤組成物に関する。

30

【背景技術】

【0003】

皮膚の老化は進行性の現象であり、経時的に生じ、アルコール消費、喫煙、および日光露出等の生活要因の影響を受け得る。顔面皮膚の老化は、萎縮、たるみ、および肥厚を特徴とし得る。萎縮は、皮膚組織の厚みの激減に相当する。皮下組織のたるみは、余分な皮膚および眼瞼下垂につながり、頬および瞼の垂れ下がった外観につながる。肥厚は、顔面下部および首の膨張による過剰な重量の増加を指す。これらの変化は、典型的には、乾燥、弾力性の喪失、およびザラザラした質感に関連する。

【0004】

ヒアルロナンとしても知られるヒアルロン酸(HA)は、結合組織、上皮組織、および神経組織においてヒトの体全体に広く分布される非硫酸化グリコサミノグリカンである。ヒアルロン酸(Hyaluronic acid)は、皮膚の様々な層に豊富であり、そこで、それは、例えば、良好な水和作用を確保し、細胞外マトリックスの組織化を支援し、充填剤物質として働き、かつ組織修復機構に関与するといった複数の機能を有する。しかしながら、年齢と共に、皮膚内に存在するヒアルロン酸、コラーゲン、エラスチン、および他のマトリックス重合体の量は減少する。例として、紫外線(たとえば太陽からの)への繰り返しの露出は、皮膚細胞のヒアルロナン産生の減少、ならびにその分解速度の増加の両方を引き起こす。この物質の喪失は、例えば、しわ、くぼみ、水分の喪失、および老化の出現に寄与する他の望ましくない状態等の様々な皮膚状態をもたらす。

40

【0005】

50

注入可能な皮膚充填剤は、老化する皮膚を治療することにおいて成功裏に使用されてきた。充填剤は、これらの皮膚状態を治療するために、失われた内因性マトリックス重合体を置換し得るか、または既存のマトリックス重合体の機能を強化 / 促進し得る。ヒアルロン酸は、ヒトの全体で天然に見出される物質であるので、ヒアルロン酸ベースの皮膚充填剤は、次第に評判となってきている。これらの充填剤は、一般に、忍容性に優れ、非永続的で、多種多様の皮膚状態に対するかなりリスクの低い治療である。

【0006】

チングル現象は、ヒアルロン酸 (HA) ベースの皮膚充填剤を投与された一部の患者において生じる有害事象である。チングル現象は、皮膚充填剤が注入された皮膚部位における青色の変色の出現によって特徴付けられ、それは半透明な表皮から透けて見える可視的なヒアルロン酸を表す。臨床報告は、充填剤投与技法および皮膚特性がこの有害事象の徴候に影響を及ぼし得ることを示唆している。高い剛性および弾力性を有する充填剤は、その物質が中層および深層真皮領域に注入されるため、顔面変色の恐れなしに、鼻唇溝、頬、および額等の顔面上の領域を修正するために成功裏に使用される。しかしながら、これらの充填物質を使用して、表層の、細線じわ、例えば、涙の通り道、眉間の線、目尻の線、笑い線、または額を修正するとき、または誤って真皮の上層領域において過度に表層に適用するとき、皮膚の青みがかった変色がしばしば観察される。チングル現象の結果と考えられている、この現象は、適用部位の半永続的な変色を残し、時には、充填物質を分解するためのヒアルロニダーゼの投与後のみに消失する。結果的に、チングル現象は、表層の細線じわに対して治療された患者においてより一般的である。ゲルが皮膚内に残る限り、典型的には数ヶ月間にわたる、チングル現象の長期的な徴候は、患者の間での主要な懸念の原因である。

10

【0007】

HAベースの皮膚充填剤ゲルは、涙の通り道、額、目尻、眉間の線等の周辺の「細線」のしわを治療するために特異的に製剤化されてきた。市販されている HA 「細線」ゲルには Juvederm Refine (G' 約 67 Pa ; G" / G' 約 0.59, HA 濃度 18 mg / mL) 、 Belotero Soft (G' 約 28 Pa ; G" / G' 約 1.1, HA 濃度 20 mg / mL) 、 Emerve1 Touch (G' 約 56 Pa ; G" / G' 約 0.64, HA 濃度 20 mg / mL) 、 Stylage S (G' 約 192 Pa ; G" / G' 約 0.20, HA 濃度 16 mg / mL) 、 Teosyal First Lines (G' 59 Pa ; G" / G' 約 0.53, HA 濃度 20 mg / mL) 、 Restylane Touch (G' 約 489 Pa ; G" / G' 約 0.24, HA 濃度 18 mg / mL) が含まれる。これらのゲルは、例えば、少量の架橋剤により HA 直鎖を軽く架橋結合することによって、および / またはこれらのゲルの最終 HA 濃度を低減することによって、低い弾性係数を有するように製剤化されるが、市販されている「細線」ゲルのほとんどは、一部の患者において、特に表層に、例えば、約 1 mm 未満の深さで注入されるときと、依然としてチングル現象を示す。

20

【0008】

コラーゲンベースのゲルは、表層のしわの治療において用いることができ、チングル現象を引き起こさないように思われる。コラーゲンベースのゲルは、それらが皮膚内で比較的不十分な持続期間を有し、また個人において事前検査を必要とするため、あまり好まれない。Radiesse (登録商標) (カルシウムヒドロキシアパタイト) は、主要な成分がヒアルロン酸でなく合成カルシウムヒドロキシアパタイトである、皮下の注入可能な埋没物である。ヒアルロン酸ベースの皮膚充填剤とは異なり、カルシウムヒドロキシアパタイトは、透明でなく、故にチングル現象の合併症を回避する。しかしながら、過度に表層に配置されると、この充填剤は、皮膚の直下で白色の物質として見られ得る。さらに、ヒアルロン酸ベースの充填剤と比較して、Radiesse (登録商標) は、注入のためにより大きい針を必要とし、典型的に、目の領域における使用には推奨されない。

30

【0009】

表層に注入されるときであってもチングル現象に起因する青みがかった変色を示さない

40

50

、注入可能なヒアルロン酸ベースの皮膚充填を提供することが望ましいであろう。

【発明の概要】

【0010】

本発明は、いかなる青みがかった皮膚の変色も生み出すことのない、または少なくとも有意なもしくは顕著な青みがかった変色のない、真皮上層内に投与され得る、HAベースの皮膚充填剤を調製するための組成物および製剤方法を記載する。さらに、本発明の本明細書に記載される充填剤ゲルの多くは、現在市販されるゲルよりも体内で有意により長く持続することが見出されている。本発明のいくつかの態様において、「チンドル形成」することなく、ボリュームおよびふくよかさを追加し、細線じわの出現を低減する、皮膚の外観を向上させるのに有用な光透過性の皮膚充填剤が提供される。本組成物は、多くの従来の光透過性の皮膚充填剤に関連する否定的な青色の変色を引き起こすことなく、皮膚の細線に、薄い皮膚の領域で、かつかなり表層であっても、導入することができる。10

【0011】

より具体的には、本発明の一態様において、生体適合性重合体、例えば、架橋結合されたヒアルロン酸成分およびヒアルロン酸成分と組み合わされた添加剤を一般に含む、長期持続性の治療的皮膚充填剤組成物が提供される。

【0012】

一実施形態において、重合体は、多糖類、例えば、ヒアルロン酸である。ヒアルロン酸は、架橋成分を含み、また非架橋成分をさらに含んでもよい。添加剤は、ビタミン、例えば、ビタミンC、例えば、ビタミンCの安定化型、またはビタミンC誘導体、例えば、L-アスコルビン酸2-グルコシド(AA2G)、リン酸アスコルビル3アミノプロピル(asco byl 3-amino propyl phosphate)(Vitagen)、またはリン酸アスコルビルナトリウム(AA2P)を含んでもよい。20

【0013】

本発明の一態様において、添加剤は、好適な反応プロセス、例えば、エーテル化、アミド化、またはエステル化によって重合体に共有結合されるビタミン誘導体である。

【0014】

本発明の幅広い態様において、皮膚充填剤組成物が提供され、その組成物は、架橋成分と架橋結合されたヒアルロン酸成分、および架橋成分以外の添加剤を含む。ヒアルロン酸成分は、添加剤に化学的に結合されてもよい。さらに、組成物は、患者の皮膚領域中に投与されると、添加剤を含まないことを除いて実質的に同一である組成物と比べて、低減されたチンドル現象を示す。組成物は、他の添加剤、例えば、リドカイン等の麻酔剤をさらに含んでもよい。一実施形態において、添加剤は、ビタミンC誘導体、例えば、AA2Gである。別の実施形態において、添加剤は、Vitagenである。30

【0015】

一実施形態において、ヒアルロン酸成分は、約3モル%～約40モル、例えば、約3モル%～約10モル%である結合度で、添加剤に化学的に結合される。

【0016】

組成物は、実質的に光透過性であってもよい。組成物は、一般に、約40Pa～約100Pa、例えば、約100Pa以下～例えば、約40Pa以上のG'値を有する。40

【0017】

本発明の別の態様において、患者の皮膚における細線を治療する方法が提供される。一実施形態において、本方法は、患者の皮膚中に、ヒアルロン酸成分と、ヒアルロン酸を架橋結合する架橋成分と、架橋成分以外の添加剤との混合物を含む、組成物を導入するステップを含み、その組成物は、実質的に光透過性であり、またその組成物は、添加剤を含まないことを除いて実質的に同一である組成物と比べて、低減されたチンドル現象を示す。

【0018】

本発明の別の態様において、顔面の審美的外観を改善する方法が提供され、本方法は、一般に、患者の皮膚領域に、チンドル現象を何ら示さないか、または有意でないチンドル現象を示す、実質的に光透過性の皮膚充填剤組成物を投与するステップを含む。組成物は50

、ヒアルロン酸を提供するステップと、架橋剤をビタミンC誘導体と反応させるステップと、反応させられた架橋剤およびビタミンC誘導体をヒアルロン酸に添加して、共有結合されたビタミンCを含む架橋結合されたヒアルロン酸組成物を形成するステップと、架橋結合されたヒアルロン酸組成物を均一化および中和して、注入可能な皮膚充填剤組成物を得るステップによって作製されてもよい。いくつかの実施形態において、ビタミンC誘導体は、AA2Gである。他の実施形態において、ビタミンC誘導体は、Vitagenである。

【0019】

本発明のなおも別の態様において、患者の薄い皮膚領域における細線の出現を低減する方法が提供され、本方法は、一般に、患者に、約1mmを超えない深さで、皮膚充填剤組成物であって、ビタミンCまたはビタミンC誘導体を含む、実質的に光透過性のヒアルロン酸ベースの皮膚充填剤組成物を投与することを含む。いくつかの実施形態において、組成物は、約0.8mm以下、約0.6mm以下、または約0.4mm以下の深さの深さで注入される。

10

【0020】

本発明のなおも別の態様において、実質的に光透過性であり、一般に、架橋成分と架橋結合されたヒアルロン酸成分、およびヒアルロン酸成分に共有結合されたビタミンC誘導体を含む、皮膚充填剤組成物が提供される。例となる実施形態において、組成物および約40Pa～約100PaのG'値を有する。さらに、組成物は、約18mg/g～約30mg/gのヒアルロン酸濃度を有してもよい。これらの組成物は、皮膚における、例えば、非常に薄い皮膚、例えば、約1mm以下の厚さを有する皮膚においてさえも細線または表層の溝を治療する際に特に有用かつ有効であり得る。いくつかの実施形態において、本発明の組成物は、皮膚中に導入された後、少なくとも3ヶ月、少なくとも6ヶ月、または最大1年持続する。

20

【0021】

本発明のこれらのおよび他の態様および利点は、次の図面および詳細な説明を参照してより容易に理解され、評価され得る。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】L アスコルビン酸2 グルコシド(AA2G)の構造の表示である。

30

【図2】リン酸アスコルビル3 アミノプロピル(Vitagen)の構造の表示である。

【図3】リン酸アスコルビルナトリウム(AA2P)の構造の表示である。

【図4】1,4 ブタンジオールジグリシジルエーテル(BDDE)の構造の表示である。

【図5】ペンタエリスリトールグリシダールエーテル(Star PEGエポキシド)の構造の表示である。

【図6】ペンタエリスリトール(3アミノプロピル)エーテル(Star PEGアミン)の構造の表示である。

【図7】本発明に従う様々な皮膚充填剤組成物についての結合度およびG'値を示す表である。

40

【図8】本発明に従うHA AA2G(BDDE)皮膚充填剤組成物についての結合度、HA濃度、およびG'値を示す表である。

【図9】4つの異なる - グルコシダーゼ濃度についての、分単位の時間の単位での、AA2GのPBS溶液からのASAの観察された放出パーセントのグラフ表示である。

【図10】本発明に従う結合された皮膚充填剤からの遊離ASAの放出プロファイル(持続放出)(モル%でのAA2G変換対反応時間)の表示を示す。

【図11A】本発明に従う様々な皮膚充填剤についての追加の放出データを示す。

【図11B】本発明に従う様々な皮膚充填剤についての追加の放出データを示す。

【図12】本発明のHAベースの皮膚充填剤ゲルおよび細線適用のためのいくつかの市販

50

されているゲルの表層注入後の皮膚の画像を示す。

【図13】本発明のHAベースの皮膚充填剤ゲルおよび細線適用のためのいくつかの市販されているゲルの可視的なチンドルスコアを示す。

【図14】本発明のHAベースの皮膚充填剤ゲルおよび細線適用のためのいくつかの市販されているゲルの、皮膚から送達される青色光の%を示す。

【図15】本発明のHAベースの皮膚充填剤ゲルおよび細線適用のためのいくつかの市販されているゲルの1週間の埋没後に残っているゲルの全体的な%を示す。

【図16】埋没された本発明のHAベースの皮膚充填剤ゲルおよび細線適用のためのいくつかの市販されているゲルの0週目、12週目、24週目、および40週目に残っているゲルの全体的な%を示す。

10

【発明を実施するための形態】

【0023】

本発明の一態様において、皮膚充填剤組成物が提供され、それらの組成物は、一般に、生体適合性重合体、例えば、架橋結合されたヒアルロン酸等の多糖類、およびその重合体に共有結合されたビタミンC誘導体を含む。組成物は、皮膚の新規コラーゲン新生ならびに他の治療的または美容的便益のためのビタミンCの持続放出を提供する。例えば、皮内で、皮膚中に導入されたときに、組成物は、体内の内因性酵素と反応し、経時的に、生理活性ビタミンCが酵素切断を介して生体内で生成される。ビタミンCが数週間または数ヶ月の期間にわたり組成物から放出されるにつれて、その付帯する便益が体にとって利用可能になる。

20

【0024】

重合体は、タンパク質、ペプチドおよびポリペプチド、ポリリジン、コラーゲン、プロコラーゲン、エラスチン、ならびにラミニンからなる重合体の群から選択され得る。

【0025】

重合体は、ヒドロキシル、アミン、およびカルボキシル官能基を有する合成重合体、ポリ(ビニルアルコール)、ポリエチレングリコール、ポリビニルアミン、ポリアリルアミン、デアセチル化ポリアクリルアミド、ポリアクリル酸、およびポリメタクリル酸からなる重合体の群から選択され得る。重合体は、
樹状(dentritic)ポリオール
および樹状ポリアミンを含む、樹状または分枝状重合体重合体からなる重合体の群から選択され得る。重合体は、ヒドロキシル、アミン、およびカルボキシル官能基を有する固体表面からなる重合体の群から選択され得る。

30

【0026】

重合体は、例えば、デンプンならびにその誘導体、デキストランならびにその誘導体、セルロースならびにその誘導体、キチンおよびキトサンおよびアルギン酸塩ならびにその誘導体を含む多糖類の群から選択される多糖類であってもよい。

【0027】

本発明の1つの例となる実施形態において、重合体はグリコサミノグリカンである。本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、2つ以上の異なるグリコサミノグリカン重合体をさらに含み得る。本明細書中で使用されるとき、用語「グリコサミノグリカン」は、「GAG」と同義であり、反復二糖単位からなる長い非分岐多糖類を指す。復単位は、ヘキソサミン(窒素含有六炭糖)に結合されたヘキソース(六炭糖)またはヘキスロン酸およびその薬学的に許容される塩からなる。GAGファミリーのメンバーは、例えば、グルクロン酸、イズロン酸、ガラクトース、ガラクトサミン、グルコサミン等、それらが含有するヘキソサミン、ヘキソース、もしくはヘキスロン酸単位の型において異なり、グリコシド結合の幾何においてもまた異なり得る。いずれのグリコサミノグリカン重合体も、そのグリコサミノグリカン重合体が皮膚の状態を改善するという条件で、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物において有用である。グリコサミノグリカンの非限定的な例として、コンドロイチン硫酸塩、デルマタン硫酸塩、ケラタン硫酸塩、ヒアルロン酸が挙げられる。グリコサミノグリカンの許容される塩の非限定的な例として、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、カルシウム塩、およびそれらの組み合わせが挙

40

50

げられる。本明細書に開示されるヒドロゲル組成物および方法において有用なグリコサミノグリカンおよびそれらの結果として生じる重合体は、例えば、Piron and Tholin, Polysaccharide Crosslinking, Hydrogel Preparation, Resulting Polysaccharides(s) and Hydrogels(s), uses Thereof、米国特許公開第2003/0148995号、Lebreton, Cross-Linking of Low and High Molecular Weight Polysaccharides Preparation of Injectible Monophase Hydrogels、Lebreton, Viscoelastic Solutions Containing Sodium Hyaluronate and Hydroxypropyl Methyl Cellulose, Preparation and Uses、米国特許公開第2008/0089918号、Lebreton, Hyaluronic Acid-Based Gels Including Lidocaine、米国特許公開第2010/0028438号、およびPolysaccharides and Hydrogels thus Obtained、米国特許公開第2006/0194758号、およびDi Napoli, Composition and Method for Intradermal Soft Tissue Augmentation、国際特許公開第2004/073759号に記載され、それらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。本明細書に開示されるヒドロゲル組成物および方法において有用なGAGは、例えば、ヒアルロンベースの皮膚充填剤、JUVADERM(登録商標)、JUVADERM(登録商標)30、JUVADERM(登録商標)Ultra、JUVADERM(登録商標)Ultra Plus、JUVADERM(登録商標)Ultra XC、およびJUVADERM(登録商標)Ultra Plus XC(Allergan Inc, Irvine, California)等、商業的に入手可能である。表1は代表的なGAGを列挙する。

【0028】

【表1】

表1 GAG の例

名称	ヘキスロン酸 /ヘキソース	ヘキソサミン	グリコシド結合 幾何	固有の特徴
コンドロイチ硫酸塩	GlcUA または GlcUA(2S)	GalNAc または GalNAc(4S)または GalNAc(6S)または GalNAc(4S、6S)	-4GlcUA β 1- 3GalNAc β 1-	最も一般的な GAG
デルマタン硫酸塩	GlcUA または IdoUA または IdoUA(2S)	GalNAc または GalNAc(4S)または GalNAc(6S)または GalNAc(4S、6S)	-4IdoUA β 1- 3GalNAc β 1-	イズロン酸の存在によりコンドロイチ硫酸塩と区別されるが、一部のヘキスロン酸単糖類は、グルクロン酸であり得る。
ケラタン硫酸塩	Gal または Gal(6S)	GlcNAc または GlcNAc(6S)	-3Gal(6S) β 1- 4GlcNAc(6S) β 1-	ケラタン硫酸塩II型はフコシル化され得る。
ヘパリン	GlcUA または IdoUA(2S)	GlcNAc または GlcNS または GlcNAc(6S)または GlcNS(6S)	-4IdoUA(2S) α 1- 4GlcNS(6S) α 1-	既知の生物学的分子のうち最も高い負電荷密度
ヘパラン硫酸塩	GlcUA または IdoUA または IdoUA(2S)	GlcNAc または GlcNS または GlcNAc(6S)または GlcNS(6S)	-4GlcUA β 1- 4GlcNAc α 1-	ヘパリンに構造が酷似しているが、ヘパラン硫酸塩二糖単位は、明確に異なる硫酸化および非硫酸化ドメインに組織化されている。
ヒアルロン	GlcUA	GlcNAc	-4GlcUA β 1- 3GlcNAc β 1-	排他的に硫酸化されていない唯一の GAG
<p>GlcUA = β-D-グルクロン酸 GlcUA(2S) = 2-O-スルホ-β-D-グルクロン酸 IdoUA = α-L-イズロン酸 IdoUA(2S) = 2-O-スルホ-α-L-イズロン酸 Gal = β-D-ガラクトース Gal(6S) = 6-O-スルホ-β-D-ガラクトース GalNAc = β-D-N-アセチルガラクトサミン GalNAc(4S) = β-D-N-アセチルガラクトサミン-4-O-硫酸塩 GalNAc(6S) = β-D-N-アセチルガラクトサミン-6-O-硫酸塩 GalNAc(4S,6S) = β-D-N-アセチルガラクトサミン-4-O-, 6-O-硫酸塩 GlcNAc = α-D-N-アセチルグルコサミン GlcNS = α-D-N-スルホグルコサミン GlcNS(6S) = α-D-N-スルホグルコサミン-6-O-硫酸塩 </p>				

【0029】

本発明の態様は、一部において、コンドロイチ硫酸塩重合体を含むヒドロゲル組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「コンドロイチ硫酸塩重合体」は、D グルクロン酸 (GlcA) および N-アセチル D-ガラクトサミン (GalNAc) の 2 つの交互に現れる单糖類の二糖類を含む様々な長さの非分岐鎖硫酸化重合体およびその薬学的に許容される塩を指す。コンドロイチ硫酸塩重合体は、エピマー化されて L-イズロン酸 (IdoA) になる D-グルクロン酸残基をもまた含み得、その場合、結果とし

10

20

30

40

50

て生じる二糖は、デルマタン硫酸塩と称される。コンドロイチン硫酸塩重合体は、100個超の個々の糖の鎖を有することができ、それらの各々は、様々な位置および量で硫酸化され得る。コンドロイチン硫酸塩重合体は、軟骨の重要な構成成分であり、圧縮に対するその抵抗性の大部分を提供する。いずれのコンドロイチン硫酸塩重合体も、そのコンドロイチン硫酸塩重合体が皮膚の状態を改善するという条件で、本明細書に開示される組成物において有用である。コンドロイチン硫酸ナトリウム、コンドロイチン硫酸カリウム、コンドロイチン硫酸マグネシウム、コンドロイチン硫酸カルシウム、およびそれらの組み合わせが挙げられる。

【0030】

10

本明細書の態様は、一部において、ケラタン硫酸塩重合体を含むヒドロゲル組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「ケラタン硫酸塩重合体」は、二糖単位であって、D ガラクトースおよびN アセチル D ガラクトサミン (GalNAc) をそれ自体含む、二糖単位を含む様々な長さの重合体およびその薬学的に許容される塩を指す。ケラタン硫酸塩の反復領域内の二糖類は、フコシル化することができ、N アセチルノイラミン酸は、その鎖の末端をキャップする。いずれのケラタン硫酸塩重合体も、そのケラタン硫酸塩重合体が皮膚状態を改善するという条件で、本明細書に開示される組成物中で有用である。ケラタン硫酸塩の薬学的に許容される塩の非限定的な例として、ケラタン硫酸塩ナトリウム、ケラタン硫酸塩カリウム、ケラタン硫酸塩マグネシウム、ケラタン硫酸塩カルシウム、およびそれらの組み合わせが挙げられる。

20

【0031】

本明細書の態様は、一部において、ヒアルロン酸重合体を含むヒドロゲル組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「ヒアルロン酸重合体」は、「HA重合体」、「ヒアルロン酸重合体」、および「ヒアルロン酸塩重合体」と同義であり、二糖単位であって、交互に現れる 1,4 および 1,3 グリコシド結合により共に結合される D グルクロン酸およびD N アセチルグルコサミン单量体をそれ自体含む、二糖単位を含む陰イオン性非硫酸化グリコサミノグリカン重合体およびその薬学的に許容される塩を指す。ヒアルロナン重合体は、動物および非動物源から精製され得る。ヒアルロナンの重合体は、約 5,000 ダルトン～約 20,000,000 ダルトンの範囲のサイズであり得る。いずれのヒアルロナン重合体も、そのヒアルロナンが皮膚状態を改善するという条件で、本明細書に開示される組成物中で有用である。ヒアルロナンの薬学的に許容される塩の非限定的な例として、ヒアルロナンナトリウム、ヒアルロナンカリウム、ヒアルロナンマグネシウム、ヒアルロナンカルシウム、およびそれらの組み合わせが挙げられる。

30

【0032】

本明細書の態様は、一部において、架橋結合されたグリコサミノグリカン重合体を含むヒドロゲル組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「架橋結合された」は、個々の重合体分子または单量体鎖を結合して、ゲル等の、より安定な構造にする分子間結合を指す。よって、架橋結合されたグリコサミノグリカン重合体は、少なくとも1つの個々の重合体分子を別の重合体分子に結合する少なくとも1つの分子間結合を有する。グリコサミノグリカン重合体の架橋結合は、ヒドロゲルの形成を典型的にもたらす。かかるヒドロゲルは高い粘性を有し、細い針に通して押し出すために有意な力を要する。本明細書に開示されるグリコサミノグリカン重合体は、非限定的に、多機能なPEGベースの架橋剤、ジビニルスルホン、ジグリシジルエーテル、およびビスエポキシド、ビスカルボジイミドを含むジアルデヒドおよびジスルフィド架橋剤を用いて架橋結合され得る。たヒアルロナン架橋剤の非限定的な例として、ペントエリスリトールテトラグリシジルエーテル (PENTGE) 等の多機能PEGベースの架橋剤、ジビニルスルホン (DVS)、1,4-ブタジオールジグリシジルエーテル (BDDDE)、1,2-ビス(2,3-エポキシプロポキシ)エチレン (EGDGE)、1,2,7,8-ジエポキシオクタン (DEO)、(フェニレンビス(エチル)カルボジイミドおよび1,6-ヘキサメチレンビス(エチルカルボジイミド)、アジピン酸ジヒドラジド (ADH)、ビス(スルホスクシンイ

40

50

ミジル)スペリン酸塩(B S)、ヘキサメチレンジアミン(H M D A)、1 (2 , 3 エポキシプロピル) 2 , 3 エポキシシクロヘキサン、リジン、リジンメチルエステル、またはそれらの組み合わせが挙げられる。他の有用な架橋剤は、2010年10月22日に出願された St roumpou lis and Tezel , Tunably Crosslinked Polysaccharide Compositions、米国特許出願第12/910,466号に開示され、それは参照によりその全体が組み込まれる。グリコサミノグリカン重合体を架橋結合する方法の非限定的な例は、例えば、に記載され、本明細書に開示の組成物および方法において有用なグリコサミノグリカン重合体の非限定的な例は、例えば、 Piron and Tholin , Polysaccharide Crosslinking , Hydrogel Preparation , Resulting Polysaccharides(s) and Hydrogel(s) , uses Thereof , 米国特許公開第2003/0148995号、 Lebreton , Cross Linking of Low and High Molecular Weight Polysaccharides Preparation of Inject able Monophase Hydrogels、 Lebreton , Viscoelastic Solutions Containing Sodium Hyaluronate and Hydroxypropyl Methyl Cellulose , Preparation and Uses , 米国特許公開第2008/0089918号、 Lebreton , Hyaluronic Acid Based Gels Including Lidocaine , 米国特許公開第2010/0028438号、および Polysaccharides and Hydrogels thus Obtained , 米国特許公開第2006/0194758号、および Di Napoli , Composition and Method for Intra dermal Soft Tissue Augmentation , 国際公開第2004/073759号に記載され、それらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0033】

本明細書の態様は、一部において、ある程度の架橋結合を有する架橋結合されたグリコサミノグリカン重合体を含むヒドロゲル組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「架橋結合程度」は、架橋剤に結合された、例えば、ヒアルロナンの二糖単量体単位等のグリコサミノグリカン重合体単量体単位の割合を指す。架橋結合程度は、架橋剤対グリコサミノグリカンの重量パーセント比として表される。本発明のある特定の有利な実施形態における架橋結合程度は、約3%～約12%、例えば、約5%～約10%である。

【0034】

ある実施形態において、ヒドロゲル組成物は、架橋結合されたグリコサミノグリカン重合体、例えば、架橋結合されたヒアルロン酸を含み、その架橋結合されたグリコサミノグリカン重合体は、例えば、約18mg/g～約30mg/gの濃度で組成物中に存在する。いくつかの実施形態において、組成物は、約24mg/gまたは約25mg/gの総ヒアルロン酸濃度を有する。

【0035】

本明細書の態様は、一部において、低分子量のヒアルロナン重合体、高分子量のヒアルロナン重合体、または低および高分子量両方のヒアルロナン重合体を含むヒドロゲル組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、「ヒアルロナン」について言及するとき、用語「高分子量」は、1,000,000ダルトン以上の平均分子量を有するヒアルロナン重合体を指す。高分子量ヒアルロナン重合体の非限定的な例として、ヒアルロナン重合体約1,500,000ダルトン、約2,000,000ダルトン、約2,500,000ダルトン、約3,000,000ダルトン、約3,500,000ダルトン、約4,000,000ダルトン、約4,500,000ダルトン、および約5,000,000ダルトンが挙げられる。本明細書中で使用されるとき、「ヒアルロナン」について言及するとき、用語「低分子量」は、1,000,000ダルトン未満の平均分子量を有するヒア

10

20

30

40

50

ルロナン重合体を指す。低分子量ヒアルロナン重合体の非限定的な例として、約200,000ダルトン、約300,000ダルトン、約400,000ダルトン、約500,000ダルトン、約600,000ダルトン、約700,000ダルトン、約800,000ダルトンの、および約900,000ダルトンのヒアルロナン重合体が挙げられる。

【0036】

ある実施形態において、組成物は、低分子量の架橋結合されたヒアルロナン重合体を含む。この実施形態の態様において、組成物は、例えば、約100,000ダルトン、約200,000ダルトン、約300,000ダルトン、約400,000ダルトン、約500,000ダルトン、約600,000ダルトン、約700,000ダルトン、約800,000ダルトン、または約900,000ダルトンの平均分子量を有する架橋結合されたヒアルロナン重合体を含む。10 この実施形態のなおも他の態様において、組成物は、例えば、最大100,000ダルトン、最大200,000ダルトン、最大300,000ダルトン、最大400,000ダルトン、最大500,000ダルトン、最大600,000ダルトン、最大700,000ダルトン、最大800,000ダルトン、最大900,000ダルトン、または最大950,000ダルトンの平均分子量を有する架橋結合されたヒアルロナン重合体を含む。この実施形態のさらに他の態様において、組成物は、例えば、約100,000ダルトン～約500,000ダルトン、約200,000ダルトン～約500,000ダルトン、約300,000ダルトン～約500,000ダルトン、約400,000ダルトン～約500,000ダルトン、約500,000ダルトン～約950,000ダルトン、約600,000ダルトン～約950,000ダルトン、約700,000ダルトン～約950,000ダルトン、約800,000ダルトン～約950,000ダルトン、約300,000ダルトン～約600,000ダルトン、約300,000ダルトン～約700,000ダルトン、約300,000ダルトン～約800,000ダルトン、または約400,000ダルトン～約700,000ダルトンの平均分子量を有する架橋結合されたヒアルロナン重合体を含む。20

【0037】

別の実施形態において、組成物は、高分子量の架橋結合されたヒアルロナン重合体を含む。この実施形態の態様において、組成物は、例えば、約1,000,000ダルトン、約1,500,000ダルトン、約2,000,000ダルトン、約2,500,000ダルトン、約3,000,000ダルトン、約3,500,000ダルトン、約4,000,000ダルトン、約4,500,000ダルトン、または約5,000,000ダルトンの平均分子量を有する架橋結合されたヒアルロナン重合体を含む。30 この実施形態のさらに他の態様において、組成物は、例えば、少なくとも1,000,000ダルトン、少なくとも1,500,000ダルトン、少なくとも2,000,000ダルトン、少なくとも2,500,000ダルトン、少なくとも3,000,000ダルトン、少なくとも3,500,000ダルトン、少なくとも4,000,000ダルトン、少なくとも4,500,000ダルトン、または少なくとも5,000,000ダルトンの平均分子量を有する架橋結合されたヒアルロナン重合体を含む。この実施形態の依然として他の態様において、組成物は、例えば、約1,000,000ダルトン～約5,000,000ダルトン、約1,500,000ダルトン～約5,000,000ダルトン、約2,000,000ダルトン～約5,000,000ダルトン、約2,500,000ダルトン～約5,000,000ダルトン、約3,000,000ダルトン～約5,000,000ダルトン、約3,500,000ダルトン～約5,000,000ダルトン、または少なくとも5,000,000ダルトンの平均分子量を有する架橋結合されたヒアルロナン重合体を含む。40

【0038】

なお別の実施形態において、組成物は、架橋結合されたヒアルロナン重合体を含み、その架橋結合されたヒアルロナン重合体は、様々な比率の高分子量ヒアルロナン重合体および低分子量ヒアルロナン重合体の両方の組み合わせを含む。この実施形態の態様において、組成物は、架橋結合されたヒアルロナン重合体を含み、その架橋結合されたヒアルロナン重合体は、約20：1、約15：1、約10：1、約5：1、約1：1、約1：5、50

約1:10、約1:15、または約1:20の比率の高分子量ヒアルロナン重合体および低分子量ヒアルロナン重合体の両方の組み合わせを含む。

【0039】

本明細書の態様は、一部において、架橋結合されていないグリコサミノグリカン重合体を含むヒドロゲル組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「架橋結合されていない（非架橋結合）」は、個々のグリコサミノグリカン重合体分子または単量体鎖を結合する分子間結合の欠如を指す。よって、非架橋結合グリコサミノグリカン重合体は、分子間結合によりいかなる他のグリコサミノグリカン重合体にも結合されていない。この実施形態の態様において、組成物は、非架橋結合コンドロイチン硫酸塩重合体、非架橋結合デルマタン硫酸塩重合体、非架橋結合ケラタン硫酸塩重合体、非架橋結合ヘパラン重合体、非架橋結合ヘパラン硫酸塩重合体、または非架橋結合ヒアルロナン重合体を含む。非架橋結合グリコサミノグリカン重合体は、水溶性であり、概して、天然では流体のままである。よって、非架橋結合グリコサミノグリカン重合体は、多くの場合、細い針に通した組成物の押し出しプロセスを促進するための潤滑剤としてグリコサミノグリカン重合体ベースのヒドロゲル組成物と混合される。10

【0040】

ある実施形態において、組成物は、非架橋結合グリコサミノグリカンを含み、その非架橋結合グリコサミノグリカンは、例えば、約2mg/g、約3mg/g、約4mg/g、約5mg/g、約6mg/g、約7mg/g、約8mg/g、約9mg/g、約10mg/g、約11mg/g、約12mg/g、約13mg/g、約13.5mg/g、約14mg/g、約15mg/g、約16mg/g、約17mg/g、約18mg/g、約19mg/g、約20mg/g、約40mg/g、または約60mg/gの濃度で存在する。この実施形態の他の態様において、組成物は、非架橋結合グリコサミノグリカンを含み、その非架橋結合グリコサミノグリカンは、例えば、少なくとも1mg/g、少なくとも2mg/g、少なくとも3mg/g、少なくとも4mg/g、少なくとも5mg/g、少なくとも10mg/g、少なくとも15mg/g、少なくとも20mg/g、少なくとも25mg/g、少なくとも35mg/g、または少なくとも40mg/gの濃度で存在する。この実施形態のなお他の態様において、組成物は、非架橋結合グリコサミノグリカンを含み、その非架橋結合グリコサミノグリカンは、例えば、最大1mg/g、最大2mg/g、最大3mg/g、最大4mg/g、最大5mg/g、最大10mg/g、最大15mg/g、最大20mg/g、または最大25mg/gの濃度で存在する。この実施形態の依然として他の態様において、組成物は、非架橋結合グリコサミノグリカンを含み、その非架橋結合グリコサミノグリカンは、例えば、約1mg/g～約60mg/g、約10mg/g～約40mg/g、約7.5mg/g～約19.5mg/g、約8.5mg/g～約18.5mg/g、約9.5mg/g～約17.5mg/g、約10.5mg/g～約16.5mg/g、約11.5mg/g～約15.5mg/g、または約12.5mg/g～約14.5mg/gの濃度で存在する。20

【0041】

本明細書の態様は、一部において、架橋結合グリコサミノグリカン重合体を本質的に含まないヒドロゲル組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「本質的に含まない」（または「本質的に～からなる」）は、微量な架橋結合マトリックス重合体しか検出され得ない組成物を指す。この実施形態の一態様において、組成物は、架橋結合コンドロイチン硫酸塩重合体を本質的に含まないコンドロイチン硫酸塩、架橋結合デルマタン硫酸塩重合体を本質的に含まないデルマタン硫酸塩、架橋結合ケラタン硫酸塩重合体を本質的に含まないケラタン硫酸塩、架橋結合ヘパラン重合体を本質的に含まないヘパラン、架橋結合ヘパラン硫酸塩重合体を本質的に含まないヘパラン硫酸塩、または架橋結合ヒアルロナン重合体を本質的に含まないヒアルロナン硫酸塩を含む。40

【0042】

本明細書の態様は、一部において、架橋結合グリコサミノグリカン重合体を完全に含まないヒドロゲル組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「完全に含まない50

」は、使用されている装置またはプロセスの検出範囲内で架橋結合グリコサミノグリカン重合体が検出され得ない、またはその存在が確認され得ない組成物を指す。この実施形態の一態様において、組成物は、架橋結合コンドロイチン硫酸塩重合体を完全に含まないコンドロイチン硫酸塩、架橋結合デルマタン硫酸塩重合体を完全に含まないデルマタン硫酸塩、架橋結合ケラタン硫酸塩重合体を完全に含まないケラタン硫酸塩、架橋結合ヘパラン重合体を完全に含まないヘパラン、架橋結合ヘパラン硫酸塩重合体を完全に含まないヘパラン硫酸塩、または架橋結合ヒアルロン酸重合体を完全に含まないヒアルロン硫酸塩を含む。

【0043】

本明細書の態様は、一部において、ある比率の架橋結合グリコサミノグリカン重合体および非架橋結合グリコサミノグリカン重合体を含むヒドロゲル組成物を提供する。架橋結合および非架橋結合グリコサミノグリカン重合体のこの比率は、ゲル：流体比としてもまた知られる。いずれのゲル：流体比も、かかる割合が本明細書に開示されるように皮膚状態を改善する本明細書に開示される組成物を作製するという条件で、本明細書に開示される組成物の作製において有用である。本発明の組成物中のゲル：流体比の非限定的な例として、100：0、98：2、90：10、75：25、70：30、60：40、50：50、40：60、30：70、25：75、10：90、2：98、および0：100が挙げられる。

【0044】

この実施形態の態様において、組成物は、架橋結合グリコサミノグリカン重合体および非架橋結合グリコサミノグリカン重合体を含み、そのゲル：流体比は、例えば、約0：100、約1：99、約2：98、約3：97、約4：96、約5：95、約6：94、約7：93、約8：92、約9：91、または約10：90である。この実施形態の他の態様において、組成物は、架橋結合グリコサミノグリカン重合体および非架橋結合グリコサミノグリカン重合体を含み、そのゲル：流体比は、例えば、最大1：99、最大2：98、最大3：97、最大4：96、最大5：95、最大6：94、最大7：93、最大8：92、最大9：91、または最大10：90である。この実施形態のさらに他の態様において、組成物は、架橋結合グリコサミノグリカン重合体および非架橋結合グリコサミノグリカン重合体を含み、そのゲル：流体比は、例えば、約0：100～約3：97、約0：100～約5：95、または約0：100～約10：90である。

【0045】

この実施形態の他の態様において、組成物は、架橋結合グリコサミノグリカン重合体および非架橋結合グリコサミノグリカン重合体を含み、そのゲル：流体比は、例えば、約15：85、約20：80、約25：75、約30：70、約35：65、約40：60、約45：55、約50：50、約55：45、約60：40、約65：35、約70：30、約75：25、約80：20、約85：15、約90：10、約95：5、約98：2、または約100：0である。この実施形態のさらに他の態様において、組成物は、架橋結合グリコサミノグリカン重合体および非架橋結合グリコサミノグリカン重合体を含み、そのゲル：流体比は、例えば、最大15：85、最大20：80、最大25：75、最大30：70、最大35：65、最大40：60、最大45：55、最大50：50、最大55：45、最大60：40、最大65：35、最大70：30、最大75：25、最大80：20、最大85：15、最大90：10、最大95：5、最大98：2、または最大100：0である。この実施形態のさらに他の態様において、組成物は、架橋結合グリコサミノグリカン重合体および非架橋結合グリコサミノグリカン重合体を含み、そのゲル：流体比は、例えば、約10：90～約70：30、約15：85～約70：30、約10：90～約55：45、約80：20～約95：5、約90：10～約100：0、約75：25～約100：0、または約60：40～約100：0である。

【0046】

本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、その組成物が個人に投与されるとき有益な効果を提供する別の薬剤または薬剤の組み合わせをさらに含み得る。かかる有益な薬剤は

10

20

30

40

50

、非限定的に、酸化防止剤、かゆみ止め、抗セルライト剤、抗傷跡剤、抗炎症剤、麻酔剤、抗刺激物剤、血管収縮薬、血管拡張薬、止血剤もしくは抗線溶剤のような抗出血剤、角質溶解剤、テンション剤、抗ざそう剤、色素沈着剤、抗色素沈着剤、または保湿剤を含む。

【0047】

本明細書の目的のために、別途定めのない限り、製剤中の「%」は重量対重量（すなわち、重量／重量）割合として定義される。

【0048】

本明細書の態様は、一部において、麻酔剤を任意に含み得る、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を提供する。麻酔剤は、好ましくは局所麻酔剤、すなわち、例えば、アミノアミド局所麻酔薬およびアミノエステル局所麻酔薬等の、可逆的な局所麻酔および痛覚の喪失を引き起こす麻酔剤である。本明細書に開示される組成物中に含まれる麻酔剤の量は、その組成物の投与に際して個人が経験する痛みをやわらげるのに有効な量である。よって、本明細書に開示される組成物中に含まれる麻酔剤の量は、その組成物総量のうちの約0.1重量%～約5重量%である。麻酔剤の非限定的な例として、リドカイン、アムブカイン(ambucaine)、アモラノン、アミロカイン(amylocaine)、ベノキシネット、ベンゾカイン、ベトキシカイン(betoxycaine)、ビフェナミン、ブピバカイン、ブタカイン、ブタンベン、ブタニリカイン、ブテタミン、ブトキシカイン(butoxycaine)、カルチカイン、クロロプロカイン、コカエチレン、コカイン、シクロメチカイン、ジブカイン、ジメチソキン(dimethysouquin)、ジメトカイン(dimethocaine)、ジペロドン、ジシクロニン(dyccyclonine)、エクゴニジン(ecgonidine)、エクゴニン、塩化エチル、エチドカイン、ベータユーカイン、ユープロシン(euprocin)、フェナルコミン(fenalcomine)、フォルモカイン(formocaine)、ヘキシリカイン、ヒドロキシテトラカイン、イソブチルp-アミノ安息香酸、ロイシノカイン(levocainecaine)メシレート、レボキサドロール(levoxadol)、リドカイン、メピバカイン、メブリルカイン、メタブトキシカイン、塩化メチル、ミルテカイン(myrtecaine)、ネバイン、オクタカイン(octacaine)、オルトカイン、オキセサゼイン、パレトキシカイン(parethoxycaine)、フェナカイン、フェノール、ピペロカイン、ピリドカイン(piridocaine)、ポリドカノール、プラモキシン、プリロカイン、プロカイン、プロパノカイン(propanoecaine)、プロパラカイン、プロピポカイン(propipocaine)、プロポキシカイン、スードコカイン(psuedococaine)、ピロカイン(pyrrhocaine)、ロピバカイン、サリチルアルコール、テトラカイン、トリカイン、トリメカイン、ゾラミン、それらの組み合わせ、およびそれらの塩が挙げられる。アミノエステル局所麻酔薬の非限定的な例として、プロカイン、クロロプロカイン、コカイン、シクロメチカイン、シメトカイン(cimetethocaine)(ラロカイン(larocaine))、プロポキシカイン、プロカイン(ノボカイン)、プロパラカイン、テトラカイン(アメソカイン)を含む。アミノアミド局所麻酔薬の非限定的な例として、アルチカイン、ブピバカイン、シンコカイン(ジブカイン)、エチドカイン、レボブピバカイン、リドカイン(リグノカイン)、メピバカイン、ピペロカイン、プリロカイン、ロピバカイン、およびトリメカインが挙げられる。本明細書に開示される組成物は、単一の麻酔剤または複数の麻酔剤を含み得る。組み合わせ局所麻酔薬の非限定的な例には、リドカイン/ブリロカイン(EMLA)がある。

【0049】

したがって、ある実施形態において、本明細書に開示される組成物は、麻酔剤およびその塩を含む。この実施形態の態様において、本明細書に開示される組成物は、アミノアミド局所麻酔薬およびその塩またはアミノエステル局所麻酔薬およびその塩を含む。この実施形態の他の態様において、本明細書に開示される組成物は、プロカイン、クロロプロカイン、コカイン、シクロメチカイン、シメトカイン、プロポキシカイン、プロカイン、ブ

10

20

30

40

50

ロパラカイン、テトラカイン、もしくはそれらの塩、またはそれらの組み合わせを含む。この実施形態のさらに他の態様において、本明細書に開示される組成物は、アルチカイン、ブピバカイン、シンコカイン、エチドカイン、レボブピバカイン、リドカイン、メピバカイン、ピペロカイン、ブリロカイン、ロビバカイン、トリメカイン、もしくはそれらの塩、またはそれらの組み合わせを含む。この実施形態のさらに他の態様において、本明細書に開示される組成物は、リドカイン／ブリロカインの組み合わせを含む。

【0050】

この実施形態の他の態様において、本明細書に開示される組成物は、例えば、その全組成物の約0.1重量%、約0.2重量%、約0.3重量%、約0.4重量%、約0.5重量%、約0.6重量%、約0.7重量%、約0.8重量%、約0.9重量%、約1.0重量%、約2.0重量%、約3.0重量%、約4.0重量%、約5.0重量%、約6.0重量%、約7.0重量%、約8.0重量%、約9.0重量%、または約10重量%の量の麻酔剤を含む。さらに他の態様において、本明細書に開示される組成物は、例えば、その全組成物の少なくとも0.1重量%、少なくとも0.2重量%、少なくとも0.3重量%、少なくとも0.4重量%、少なくとも0.5重量%、少なくとも0.6重量%、少なくとも0.7重量%、少なくとも0.8重量%、少なくとも0.9重量%、少なくとも1.0重量%、少なくとも2.0重量%、少なくとも3.0重量%、少なくとも4.0重量%、少なくとも5.0重量%、少なくとも6.0重量%、少なくとも7.0重量%、少なくとも8.0重量%、少なくとも9.0重量%、または少なくとも10重量%の量の麻酔剤を含む。
さらに他の態様において、本明細書に開示される組成物は、例えば、その全組成物の最大0.1重量%、最大0.2重量%、最大0.3重量%、最大0.4重量%、最大0.5重量%、最大0.6重量%、最大0.7重量%、最大0.8重量%、最大0.9重量%、最大1.0重量%、最大2.0重量%、最大3.0重量%、最大4.0重量%、最大5.0重量%、最大6.0重量%、最大7.0重量%、最大8.0重量%、最大9.0重量%、または最大10重量%の量の麻酔剤を含む。さらなる態様において、本明細書に開示される組成物は、例えば、その全組成物の約0.1重量%～約0.5重量%、約0.1重量%～約1.0重量%、約0.1重量%～約2.0重量%、約0.1重量%～約3.0重量%、約0.1重量%～約4.0重量%、約0.1重量%～約5.0重量%、約0.2重量%～約0.9重量%、約0.2重量%～約1.0重量%、約0.2重量%～約2.0重量%、約0.5重量%～約1.0重量%、または約0.5重量%～約2.0重量%の量の麻酔剤を含む。

【0051】

別の実施形態において、本明細書に開示される組成物は、麻酔剤を含まない。

【0052】

本発明の一態様において、重合体、例えば、グリコサミノグリカン重合体、例えば、ヒアルロン酸重合体、例えば、少なくとも一部分が架橋結合されるヒアルロン酸と、その重合体と組み合わされた添加剤または有益な薬剤とを含む、注入可能な皮膚充填剤が提供される。

【0053】

重合体と組み合わされた有益な薬剤は、ビタミン、例えば、ビタミンCを含み得る。ビタミンCの好適な型の非限定的な例として、アスコルビン酸、ならびにアスコルビン酸のナトリウム、カリウム、およびカルシウム塩、長鎖脂肪酸を有するアスコルビン酸の脂肪溶解性エステル（パルミチン酸アスコルビルまたはステアリン酸アスコルビル）、リン酸アスコルビルマグネシウム（M A P）、リン酸アスコルビルナトリウム（S A P）、およびアスコルビン酸2-グルコシド（A A 2 G（登録商標））、リン酸アスコルビルナトリウム（A A 2 P）、硫酸アスコルビルニナトリウム、およびリン酸アスコルビル3-アミノプロピル（a s c o b y l 3 - a m i n o p r o p y l p h o s p h a t e）（V i t a g e n）が挙げられる。

【0054】

ある特に有利な実施形態において、有益な薬剤は、重合体に共有結合される。例えば、

有益な薬剤は、重合体に共有結合され、組成物中に、その組成物総量のうちの約0.04重量%～約5.0重量%、例えば、その組成物総量のうちの約0.1重量%～約4.0重量%、例えば、その組成物総量のうちの約0.2重量%～約2.0重量%の量で存在する、ビタミンC、またはビタミンC誘導体であってもよい。一実施形態において、本明細書に開示される組成物中に含まれるビタミンCの量は、その組成物総量のうちの約0.3重量%～約1.2重量%である。

【0055】

好ましくは、重合体に共有結合されるビタミンCは、アスコルビン酸、L-アスコルビン酸、L-アスコルビン酸2-硫酸塩(AA-2S)およびL-アスコルビン酸2-リン酸塩(AA-2P)、アスコルビン酸2-O-グルコシド(AA-2G)、6-O-アシル-2-O-アルファ-D-グルコピラノシリル-L-アスコルビン酸(6-Acyl-A-A-2G)、(リン酸アスコルビル3-アミノプロピル(asco byl 3-amino propyl phosphate)、パルミチン酸アスコルビル)、それらの誘導体および組み合わせのうちの少なくとも1つを含む。本明細書に開示される組成物は、単一のビタミンC剤または複数のビタミンC剤を含み得る。

【0056】

本発明の別の実施形態において、ヒアルロン酸がB D D Eと架橋結合された、皮膚充填剤が提供される。この実施形態において、結合度は、約3モル%～約10モル%、約3モル%～約15モル%、約3モル%～約40モル%であり得る。

【0057】

いくつかの実施形態において、皮膚充填剤は、持続的な生物学的利用能を有する。例えば、ヒトの皮膚に導入されたときに、少なくとも約1ヶ月～最大約20ヶ月、またはそれを超える間にわたって、アスコルビン酸または他のビタミンをヒトに放出するために有効である、皮膚充填剤が提供される。

【0058】

本明細書の態様は、一部において、複素弾性係数、弾性係数、粘性係数、および/またはタンジェント¹を示す、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を提供する。本明細書に開示される組成物は、その組成物が、力(ストレス、変形)を適用されたときに、弾性成分(例えば、架橋結合されたグリコサミノグリカン重合体等の、固体様)および粘性成分(例えば、架橋結合されていないグリコサミノグリカン重合体、または担体相等の液体様)を有するという点で粘弾性である。この特性を説明した流体力学的属性は、変形に対する組成物全体の抵抗性を定義する、複素弾性係数(G^*)である。複素弾性係数は、実数および虚数部分を有する複素数である、 $G^* = G' + iG''$ である。 G^* の絶対値は、 $Abs(G^*) = \sqrt{G'^2 + G''^2}$ である。複素弾性係数は、弾性係数(G')および粘性係数(G'')の合計として定義され得る。Falcone, et al., Temporary Polysaccharide Dermal Fillers: A Model for Persistence Based on Physical Properties, Dermatol Surg. 35(8): 1238-1243 (2009)、Tezel, 上記, 2008、Kablik, 上記, 2009、Beasley, 上記, 2009、それらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0059】

弾性係数、または弾性の係数は、力をかけられたときに、ヒドロゲル物質が変形に抵抗する能力、または逆に言えば、非恒久的に変形される物体の性質を指す。弾性係数は、組成物の硬度を特徴付け、それはその組成物の運動からのエネルギーの貯蔵を示すので、貯蔵弾性係数としても知られる。弾性係数は、弾性と強度との間の相互作用を説明し($G' = \text{圧力} / \text{歪み}$)、よって、組成物の硬さまたは軟らかさの定量的測定を提供する。物体の弾性係数は、弾性変形領域における物体の圧力対歪み曲線の傾き： $= \text{圧力} / \text{歪み}$ として定義され、ここで γ は、弾性係数(単位: パスカル)であり、圧力は、(変形を引き起こす力)/(力がかけられた領域)であり、歪みは、その物体の元の状態に対してその圧力

により引き起こされた変化率である。その力がかけられる速さに依存するが、より硬い組成物は、より高い弾性係数を有し、かつ、より硬い組成物は、例えば、注入等の、ある一定の距離、その物質を変形するためにより大きな力を要するであろう。圧力を（方向も含めて）どのように測定するか規定すれば、多くの型の弾性係数が定義される。3つの主要な弾性係数は、引張弾性係数、せん断弾性係数、および体積弾性係数である。

〔 0 0 6 0 〕

粘性係数は、粘性損失として失われるエネルギーを示すので、損失弾性係数としてもまた知られる。タンジェント δ は、粘性係数と弾性係数との比率である。タンジェント $\delta = G''/G'$ 。Fall cone, 上記, 2009。本明細書に開示されるタンジェント値については、タンジェント δ は、周波数 1 Hz での動的弾性係数から得られる。より低いタンジェント δ は、より硬い、より固い、またはより弾性の組成物に相当する。

【 0 0 6 1 】

別の実施形態において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、ある弾性係数を示す。この実施形態の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、約25Pa、約50Pa、約75Pa、約100Pa、約125Pa、約150Pa、約175Pa、約200Pa、約250Pa、約300Pa、約350Pa、約400Pa、約450Pa、約500Pa、約550Pa、約600Pa、約650Pa、約700Pa、約750Pa、約800Pa、約850Pa、約900Pa、約950Pa、約1,000Pa、約1,200Pa、約1,300Pa、約1,400Pa、約1,500Pa、約1,600Pa、約1,700Pa、約1,800Pa、約1,900Pa、約2,000Pa、約2,100Pa、約2,200Pa、約2,300Pa、約2,400Pa、または約2,500Paの弾性係数を示す。この実施形態の他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、少なくとも25Pa、少なくとも50Pa、少なくとも75Pa、少なくとも100Pa、少なくとも125Pa、少なくとも150Pa、少なくとも175Pa、少なくとも200Pa、少なくとも250Pa、少なくとも300Pa、少なくとも350Pa、少なくとも400Pa、少なくとも450Pa、少なくとも500Pa、少なくとも550Pa、少なくとも600Pa、少なくとも650Pa、少なくとも700Pa、少なくとも750Pa、少なくとも800Pa、少なくとも850Pa、少なくとも900Pa、少なくとも950Pa、少なくとも1,000Pa、少なくとも1,200Pa、少なくとも1,300Pa、少なくとも1,400Pa、少なくとも1,500Pa、少なくとも1,600Pa、少なくとも1,700Pa、少なくとも1,800Pa、少なくとも1,900Pa、少なくとも2,000Pa、少なくとも2,100Pa、少なくとも2,200Pa、少なくとも2,300Pa、少なくとも2,400Pa、または少なくとも2,500Paの弾性係数を示す。この実施形態のさらに他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、最大25Pa、最大50Pa、最大75Pa、最大100Pa、最大125Pa、最大150Pa、最大175Pa、最大200Pa、最大250Pa、最大300Pa、最大350Pa、最大400Pa、最大450Pa、最大500Pa、最大550Pa、最大600Pa、最大650Pa、最大700Pa、最大750Pa、最大800Pa、最大850Pa、最大900Pa、最大950Pa、最大1,000Pa、最大1,200Pa、最大1,300Pa、最大1,400Pa、最大1,500Pa、または最大1,600Paの弾性係数を示す。この実施形態のさらに他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、約25Pa～約150Pa、約25Pa～約300Pa、約25Pa～約500Pa、約25Pa～約800Pa、約125Pa～約300Pa、約125Pa～約500Pa、約125Pa～約800Pa、約500Pa～約1,600Pa、約600Pa～約1,600Pa、約700Pa～約1,600Pa、約800Pa～約1,600Pa、約900Pa～約1,600Pa、約1,000Pa～約1,600Pa、約1,100Pa～約1,600Pa、約1,200Pa～約1,600Pa、約1,600Pa～約2,500Pa、約1,000Pa～約2,500Pa、約2,000Pa～約2,500Pa、約1,500Pa～約2,500Pa、約2,000Pa～約2,500Pa、約2,500Pa～約1,300Pa、約1,600Pa～約1,600Pa、約1,400Pa～約1,700Pa、約1,500Pa～約1,500Pa

～約1,800Pa、約1,600Pa～約1,900Pa、約1,700Pa～約2,000Pa、約1,800Pa～約2,100Pa、約1,900Pa～約2,200Pa、約2,000Pa～約2,300Pa、約2,100Pa～約2,400Pa、または約2,200Pa～約2,500Paの弾性係数を示す。

【0062】

別の実施形態において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、ある粘性係数を示す。この実施形態の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、約10Pa、約20Pa、約30Pa、約40Pa、約50Pa、約60Pa、約70Pa、約80Pa、約90Pa、約100Pa、約150Pa、約200Pa、約250Pa、約300Pa、約350Pa、約400Pa、約450Pa、約500Pa、約550Pa、約600Pa、約650Pa、または約700Paの粘性係数を示す。この実施形態の他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、最大10Pa、最大20Pa、最大30Pa、最大40Pa、最大50Pa、最大60Pa、最大70Pa、最大80Pa、最大90Pa、最大100Pa、最大150Pa、最大200Pa、最大250Pa、最大300Pa、最大350Pa、最大400Pa、最大450Pa、最大500Pa、最大550Pa、最大600Pa、最大650Pa、または最大700Paの粘性係数を示す。この実施形態のさらに他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、約10Pa～約30Pa、約10Pa～約50Pa、約10Pa～約100Pa、約10Pa～約150Pa、約70Pa～約100Pa、約50Pa～約350Pa、約150Pa～約450Pa、約250Pa～約550Pa、約350Pa～約700Pa、約50Pa～約150Pa、約100Pa～約200Pa、約150Pa～約250Pa、約200Pa～約300Pa、約250Pa～約350Pa、約300Pa～約400Pa、約350Pa～約450Pa、約400Pa～約500Pa、約450Pa～約550Pa、約500Pa～約600Pa、約550Pa～約650Pa、または約600Pa～約700Paの粘性係数を示す。

【0063】

別の実施形態において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、あるタンジェントを示す。この実施形態の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、約0.1、約0.2、約0.3、約0.4、約0.5、約0.6、約0.7、約0.8、約0.9、約1.0、約1.1、約1.2、約1.3、約1.4、約1.5、約1.6、約1.7、約1.8、約1.9、約2.0、約2.1、約2.2、約2.3、約2.4、または約2.5のタンジェントを示す。この実施形態の他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、最大0.1、最大0.2、最大0.3、最大0.4、最大0.5、最大0.6、最大0.7、最大0.8、最大0.9、最大1.0、最大1.1、最大1.2、最大1.3、最大1.4、最大1.5、最大1.6、最大1.7、最大1.8、最大1.9、最大2.0、最大2.1、最大2.2、最大2.3、最大2.4、または最大2.5のタンジェントを示す。この実施形態のさらに他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、約0.1～約0.3、約0.3～約0.5、約0.5～約0.8、約1.1～約1.4、約1.4～約1.7、約0.3～約0.6、約0.1～約0.5、約0.5～約0.9、約0.1～約0.6、約0.1～約1.0、約0.5～約1.5、約1.0～約2.0または約1.5～約2.5のタンジェントを示す。

【0064】

本明細書の態様は、一部において、透明性および／または半透明性を有する本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を提供する。光透過性は、可視光が物質を通り抜けることを可能にする物理的特性であり、一方、半透明性（半透明または半透明度とも呼ばれる）は、光が拡散して通り抜けることを可能にするのみである。反対の特性は、不透明性である。透明な物質は、澄んでいるが、一方、半透明な物質は、はっきりとは透けて見え得ない。本明細書に開示されるヒドロゲルは、好ましくは光透過性であるか、または少なくとも半透明である。

【0065】

10

20

30

40

50

ある実施形態において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、光学的に半透明である。この実施形態の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、光の約75%、光の約80%、光の約85%、光の約90%、光の約95%、または光の約100%を拡散して伝導する。この実施形態の他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、光の少なくとも75%、光の少なくとも80%、光の少なくとも85%、光の少なくとも90%、または光の少なくとも95%を拡散して伝導する。この実施形態のなおも他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、光の約75%～約100%、光の約80%～約100%、光の約85%～約100%、光の約90%～約100%、または光の約95%～約100%を拡散して伝導する。ある実施形態において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、光透過性であり、可視光の100%を伝導する。

10

【0066】

本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、そのヒドロゲルを粉碎して粒子にすることによりさらにプロセスされ、任意に、例えば、水または食塩水等の、担体相と混合し、溶液、油、ローション、ゲル、軟膏、クリーム、スラリー、膏薬、またはペーストのような注入可能なまたは局所的物質を形成し得る。よって、開示されるヒドロゲル組成物は、単相性または多相性組成物であり得る。ヒドロゲルは、直径約15μm～約30μm、約50μm～約75μm、約100μm～約150μm、約200μm～約300μm、約450μm～約550μm、約600μm～約700μm、約750μm～約850μm、または約900μm～約1,000μm等の、約10μm～約1000μmの粒子サイズに製粉され得る。

20

【0067】

本明細書の態様は、一部において、注入可能である本明細書に開示される組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「注入可能な」は、細い針を備える注入装置を用いて個人の皮膚領域にその組成物を投与するために必要な特性を有する物質を指す。本明細書中で使用されるとき、用語「細い針」は、27ゲージ以下の針を指す。本明細書に開示される組成物の注入可能性は、上記に議論されるようにヒドロゲル粒子をサイズ調整することにより達成され得る。

【0068】

この実施形態の態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、細い針に通して注入可能である。この実施形態の他の態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、例えば、約27ゲージ、約30ゲージ、または約32ゲージの針に通して注入可能である。この実施形態のなおも他の態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、例えば、22ゲージ以下、27ゲージ以下、30ゲージ以下、または32ゲージ以下の針に通して注入可能である。この実施形態のなおも他の態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、例えば、約22ゲージ～約35ゲージ、22ゲージ～約34ゲージ、22ゲージ～約33ゲージ、22ゲージ～約32ゲージ、約22ゲージ～約27ゲージ、または約27ゲージ～約32ゲージの針に通して注入可能である。

30

【0069】

この実施形態の態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、100mm/分の速度で約60N、約55N、約50N、約45N、約40N、約35N、約30N、約25N、約20N、または約15Nの押出力で注入され得る。この実施形態の他の態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、約60N以下、約55N以下、約50N以下、約45N以下、約40N以下、約35N以下、約30N以下、約25N以下、約20N以下、約15N以下、約10N以下、または約5N以下の押出力で27ゲージの針に通して注入され得る。この実施形態のなおも他の態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、約60N以下、約55N以下、約50N以下、約45N以下、約40N以下、約35N以下、約30N以下、約25N以下、約20N以下、約15N以下、または約5N以下の押出力で30ゲージの針に通して注入され得る。この実施形態の依然として他の態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、約60N以下、約55N以下、約50N以下、約45N以下、約40N以下、約35

40

50

N以下、約30N以下、約25N以下、約20N以下、約15N以下、約10N以下、または約5N以下の押出力で32ゲージの針に通して注入され得る。

【0070】

本明細書の態様は、一部において、粘着性を示す、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を提供する。粘着性は、粘着、粘着性吸引力、粘着力、または圧縮力とも称され、分子を合体させるよう働く、物質内の類似分子間の分子間引力により引き起こされる物質の物理的特性である。粘着性は、グラム重量(g m f)単位で表される。粘着性は、他の要因の中でも、最初の遊離グリコサミノグリカン重合体の分子量比、グリコサミノグリカン重合体の架橋結合度、架橋結合後の残留遊離グリコサミノグリカン重合体の量、およびそのヒドロゲル組成物のpHにより影響を受ける。組成物は、投与部位に局在したまま残るように十分に粘着性であるべきである。さらに、ある特定の用途において、十分な粘着性は、組成物が機械的な負荷循環の場合において、その形、ひいては機能性を保持するためには重要である。よって、一実施形態において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、水と同等の粘着性を示す。なおも別の実施形態において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、投与部位に局在したまま残るのに十分な粘着性を示す。依然として別の実施形態において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、その形を保持するのに十分な粘着性を示す。1つのさらなる実施形態において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、その形および機能性を保持するのに十分な粘着性を示す。

10

【0071】

本明細書の態様は、一部において、生理学的に許容される容量オスモル濃度を示す、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「容量オスモル濃度」は、溶液中で浸透圧的に活性な溶質の濃度を指す。本明細書中で使用されるとき、用語「生理学的に許容される容量オスモル濃度」は、生体の正常な機能に従う、またはそれに特徴的な容量オスモル濃度を指す。よって、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の投与は、哺乳類に投与されたとき、長期のまたは恒久的な有害な効果を実質的に有しない容量オスモル濃度を示す。容量オスモル濃度は、溶媒リットル当たりの浸透圧的に活性な溶質のオスモルを用いて表される(Osmol/LまたはOsm/L)。容量オスモル濃度は、溶質のモルではなく、浸透圧的に活性な溶質粒子のモルを測定するので、モル濃度とは区別される。いくつかの化合物は、溶液中で解離し得るが、一方で、他の化合物は、解離し得ないので、その区別が生じる。溶液の容量オスモル濃度は、以下の式から計算され得る: $Osmol/L = \frac{1}{i} C_i$ 、式中、 i は、その溶液の非理想特性の程度を表す浸透係数であり、 C_i は、分子が解離した、粒子(例えば、イオン)の数であり、 C_i は、その溶質のモル濃度であり、 i は、特定の溶質の同一性を表す標識である。本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の容量オスモル濃度は、溶液を測定する従来の方法を用いて測定され得る。

20

30

【0072】

1つの実施形態において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、生理学的に許容される容量オスモル濃度を示す。本明細書中で使用されるとき、用語「重量オスモル濃度」は、体内の溶媒キロ当りの浸透圧的に活性な溶質の濃度を指す。本明細書中で使用されるとき、用語「生理学的に許容される重量オスモル濃度」は、生体の正常な機能に従う、またはそれに特徴的な重量オスモル濃度を指す。よって、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の投与は、哺乳類に投与されたとき、長期のまたは恒久的な有害な効果を実質的に有しない重量オスモル濃度を示す。重量オスモル濃度は、溶媒キログラム当たりの浸透圧的に活性な溶質のオスモルを用いて表され(Osmol/kgまたはOsm/kg)、その溶液中に存在する全ての溶質のモル濃度の合計に等しい。溶液の重量オスモル濃度は、浸透圧計を用いて測定され得る。最新の研究室で最も一般的に使用される器具は、冰点降下浸透圧計である。この器具は、重量オスモル濃度が増加している溶液中で起こる冰点変化(冰点降下浸透圧計)、または重量オスモル濃度が増加している溶液中で起こる蒸気圧変化(蒸気圧降下浸透圧計)を測定する。

40

【0073】

50

この実施形態の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、約 100 mOsm / L、約 150 mOsm / L、約 200 mOsm / L、約 250 mOsm / L、約 300 mOsm / L、約 350 mOsm / L、約 400 mOsm / L、約 450 mOsm / L、または約 500 mOsm / L の容量オスモル濃度を示す。この実施形態の他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、少なくとも 100 mOsm / L、少なくとも 150 mOsm / L、少なくとも 200 mOsm / L、少なくとも 250 mOsm / L、少なくとも 300 mOsm / L、少なくとも 350 mOsm / L、少なくとも 400 mOsm / L、少なくとも 450 mOsm / L、または少なくとも 500 mOsm / L の容量オスモル濃度を示す。この実施形態のなおも他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、最大 100 mOsm / L、最大 150 mOsm / L、最大 200 mOsm / L、最大 250 mOsm / L、最大 300 mOsm / L、最大 350 mOsm / L、最大 400 mOsm / L、最大 450 mOsm / L、または最大 500 mOsm / L の容量オスモル濃度を示す。この実施形態の依然として他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、約 100 mOsm / L ~ 約 500 mOsm / L、約 200 mOsm / L ~ 約 500 mOsm / L、約 200 mOsm / L ~ 約 400 mOsm / L、約 300 mOsm / L ~ 約 400 mOsm / L、約 270 mOsm / L ~ 約 390 mOsm / L、約 225 mOsm / L ~ 約 350 mOsm / L、約 250 mOsm / L ~ 約 325 mOsm / L、約 275 mOsm / L ~ 約 300 mOsm / L、または約 285 mOsm / L ~ 約 290 mOsm / L の容量オスモル濃度を示す。

【0074】

10

本明細書の態様は、一部において、実質的な安定性を示す、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を提供する。本明細書中で使用されるとき、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物について言及するとき、用語「安定性」または「安定な」は、個人への投与前の貯蔵中にいかなる実質的なまたは顕著な程度まで低下し、分解し、または壊れる傾向もない組成物を指す。本明細書中で使用されるとき、用語「実質的な熱安定性」、「実質的に熱安定な」、「オートクレーブ安定な」、または「蒸気滅菌安定な」は、本明細書に開示される熱処理にかけられたときに実質的に安定である、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を指す。

【0075】

20

本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の安定性は、例えば、常圧でのまたは圧力下での（例えば、オートクレーブ）蒸気滅菌等の、熱処理に、ヒドロゲル組成物をかけることにより決定され得る。好ましくは、その熱処理は、約 1 分 ~ 約 10 分間にわたって少なくとも約 100 の温度で行われる。本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の実質的な安定性は、1) 滅菌後の本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の押出力の変化 (F) を決定することにより評価することができ、ここで (特定の添加剤を伴うヒドロゲル組成物の押出力) - (添加剤の添加を伴わないヒドロゲル組成物の押出力) により計算されるとき、2 N 未満の押出力の変化は、実質的に安定なヒドロゲル組成物の表示であり、および / または 2) 滅菌後の本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の流体力学的特性の変化を決定することにより評価することができ、ここで (添加剤を伴うゲル製剤のタンジェント

1 Hz) - (添加剤を伴わないゲル製剤のタンジェント 1 Hz) により計算されるとき、0.1 未満のタンジェント 1 Hz の変化は実質的に安定なヒドロゲル組成物の表示である。よって、本明細書に開示される実質的に安定なヒドロゲル組成物は、以下の特徴：均一性、押出力、粘着性、ヒアルロン酸濃度、薬剤（単数または複数）濃度、容量オスモル濃度、pH、または熱処理前のヒドロゲルに所望される他の流体力学的特徴のうちの 1 つ以上を滅菌後に保持する。

【0076】

1 つの実施形態において、グリコサミノグリカン重合体および本明細書に開示される少なくとも 1 つの薬剤を含むヒドロゲル組成物は、本明細書に開示される所望のヒドロゲル特性を維持する熱処理を用いてプロセスされる。この実施形態の態様において、グリコサミノグリカン重合体および本明細書に開示される少なくとも 1 つの薬剤を含むヒドロゲル

30

40

50

組成物は、例えば、約100、約105、約110、約115、約120、約125、または約130の熱処理を用いてプロセスされる。この実施形態の他の態様において、グリコサミノグリカン重合体および本明細書に開示される少なくとも1つの薬剤を含むヒドロゲル組成物は、例えば、少なくとも100、少なくとも105、少なくとも110、少なくとも115、少なくとも120、少なくとも125、または少なくとも130の熱処理を用いてプロセスされる。この実施形態のさらに他の態様において、グリコサミノグリカン重合体および本明細書に開示される少なくとも1つの薬剤を含むヒドロゲル組成物は、例えば、約100～約120、約100～約125、約100～約130、約100～約135、約110～約120、約110～約125、約110～約130、約110～約135、約120～約125、約120～約130、約120～約135、約125～約130、または約125～約135の熱処理を用いてプロセスされる。

【0077】

本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の長期安定性は、ヒドロゲル組成物を、例えば、約45環境での約60日間の保存等の熱処理に供することにより決定され得る。本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の長期安定性は、1)45熱処理後のヒドロゲル組成物の透明度および色を評価することにより評価することができ、ここで、透明なおよび無色のヒドロゲル組成物は、実質的に安定なヒドロゲル組成物の表示であり、2)45熱処理後の本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の押出力の変化(F)を決定することにより評価することができ、ここで、(45熱処理前の特定の添加剤を伴うヒドロゲル組成物の押出力)-(45熱処理後の特定の添加剤を伴うヒドロゲル組成物の押出力)により計算されるとき、2N未満の押出力の変化は、実質的に安定なヒドロゲル組成物の表示であり、および/または3)滅菌後の本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の流体力学的特性の変化を決定することにより評価することができ、ここで、(45熱処理前の特定の添加剤を伴うゲル形成のタンジェント1Hz)-(45熱処理後の特定の添加剤を伴うゲル形成のタンジェント1Hz)により計算されるとき、0.1未満のタンジェント1Hzの変化は、実質的に安定なヒドロゲル組成物の表示である。よって、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の長期安定性は、45熱処理後の以下の特徴：透明度(透明性および半透明性)、均一性、および粘着性のうちの1つ以上の保持により評価される。

【0078】

この実施形態の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、約3ヶ月、約6ヶ月、約9ヶ月、約12ヶ月、約15ヶ月、約18ヶ月、約21ヶ月、約24ヶ月、約27ヶ月、約30ヶ月、約33ヶ月、または約36ヶ月間、室温で実質的に安定である。この実施形態の他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、少なくとも3ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも21ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも27ヶ月、少なくとも30ヶ月、少なくとも33ヶ月、または少なくとも36ヶ月間、室温で実質的に安定である。この実施形態の他の態様において、ヒドロゲル組成物は、例えば、約3ヶ月～約12ヶ月、約3ヶ月～約18ヶ月、約3ヶ月～約24ヶ月、約3ヶ月～約30ヶ月、約3ヶ月～約36ヶ月、約6ヶ月～約12ヶ月、約6ヶ月～約18ヶ月、約6ヶ月～約24ヶ月、約6ヶ月～約30ヶ月、約6ヶ月～約36ヶ月、約9ヶ月～約12ヶ月、約9ヶ月～約18ヶ月、約9ヶ月～約24ヶ月、約9ヶ月～約30ヶ月、約12ヶ月～約18ヶ月、約12ヶ月～約24ヶ月、約12ヶ月～約30ヶ月、約12ヶ月～約36ヶ月、約18ヶ月～約24ヶ月、約18ヶ月～約30ヶ月、または約18ヶ月～約36ヶ月間、室温で実質的に安定である。

【0079】

本組成物は、非限定的に、緩衝液、防腐剤、等張化剤、塩、抗酸化物質、重量オスモル濃度調整剤、乳化剤、湿潤剤等を含む、非限定的に、他の薬学的に許容される成分を任意に含み得る。

【0080】

薬学的に許容される緩衝液は、結果として生じる調製物が薬学的に許容されるものであることを条件として、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を調製するために使用され得る緩衝液である。薬学的に許容される緩衝液の非限定的な例として、酢酸塩緩衝液、ホウ酸塩緩衝液、クエン酸塩緩衝液、中性緩衝食塩水、リン酸塩緩衝液、およびリン酸塩緩衝食塩水が挙げられる。薬学的に許容される緩衝液のいずれの濃度も、治療上有効量の活性成分がこの有効な濃度の緩衝液を用いて回収されるという条件で、本明細書に開示される薬学的組成物の製剤化において有用であり得る。生理学的に許容される緩衝液の濃度の非限定的な例は、約0.1 mM～約900 mMの範囲内で生じる。薬学的に許容される緩衝液のpHは、結果として生じる調製物が薬学的に許容されるという条件で、調整され得る。必要に応じ、酸または塩基が薬学的組成物のpHを調整するために使用され得ることが理解される。いずれの緩衝されたpHレベルも、治療上有効量のマトリックス重合体活性成分がこの有効なpHレベルを用いて回収されるという条件で、薬学的組成物の製剤化において有用であり得る。生理学的に許容されるpHの非限定的な例は、約pH 5.0～約pH 8.5の範囲内で生じる。例えば、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物のpHは、約5.0～約8.0、または約6.5～約7.5、約7.0～約7.4、もしくは約7.1～約7.3であり得る。10

【0081】

薬学的に許容される防腐剤は、非限定的に、メタ重亜硫酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、アセチルシステイン、ブチル化ヒドロキシアニソール、およびブチル化ヒドロキシトルエンを含む。薬学的に許容される防腐剤は、非限定的に、塩化ベンザルコニウム、クロロブタノール、チメロサール、酢酸フェニル水銀、硝酸フェニル水銀、例えば、PURITE(登録商標)(Allergan, Inc. Irvine, CA)等の安定化オキシクロロ組成物、ならびに例えば、DTPAまたはDTPA ビスアミド、DTPAカルシウム、およびCANDTPA ビスアミド等のキレート剤を含む。20

【0082】

本明細書に開示されるヒドロゲル組成物において有用な薬学的に許容される等張化剤は、非限定的に、例えば、塩化ナトリウムおよび塩化カリウム等の塩、ならびにグリセリンを含む。組成物は、塩として提供されてもよく、塩酸、硫酸、酢酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸等を含むが、これらに限定されない、多くの酸と共に形成され得る。塩は、その対応する遊離塩基形よりも水性または他のプロトン溶媒中で可溶性である傾向がある。これらのおよび薬理学分野において既知の他の物質が本明細書に開示される薬学的成物中に含まれ得ることが理解される。薬理学的に許容される成分の他の非限定的な例は、Ansels, 上記, (1999)、Gennaro, 上記, (2000)、Hardman, 上記, (2001)、およびRowe, 上記, (2003)に見出すことができ、それらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。30

【0083】

本明細書の態様は、一部において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を投与することによって個人の軟組織状態を治療する方法を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「治療する」は、軟組織の欠点、欠損、疾患、および/または障害を特徴とする軟組織状態の美容的または臨床的症状を個人において低下させることもしくは消去すること、または軟組織の欠点、欠損、疾患、および/もしくは障害を特徴とする状態の美容的もしくは臨床的症状の開始を個人において遅らせることもしくは妨げることを指す。例えば、用語「治療する」は、軟組織の欠損、疾患、および/または障害を特徴とする状態の症状を例えば、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも100%低減することを意味し得る。軟組織の欠損、疾患、および/または障害を特徴とする状態の治療における本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の有効性は、その状態に関連する1つ以上の美容的、臨床的症状、および/または生理学的指標を観察することにより決定され得る。軟組織の欠損、疾患、および/または障害における改善4050

は、同時療法の必要性が低減されたことによってもまた示され得る。当業者であれば、特定の軟組織の欠損、疾患、および／または障害に関連する適切な症状または指標を認識し、また、ある個人が本明細書に開示される化合物または組成物での治療の候補であるかどうかを決定する方法を認識するであろう。

【0084】

本発明に従うヒドロゲル組成物は、個人に投与される。個人は、典型的に、いずれの年齢、性別、または人種のヒトでもある。典型的に、軟組織状態を治療するための従来の処置の候補であるいずれの個人も本明細書に開示される方法の候補である。老化皮膚の徵候を有する対象は成人であるが、早期老化または治療に好適な他の皮膚状態（例えば、傷跡）を有する対象もまた、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物で治療され得る。さらに、本開示のヒドロゲル組成物および方法は、現在の軟組織移植技術では技術的に不可能であり得る、または審美的に許容され得ない、体の部分または領域の少しの／中程度の拡張、形の変化、または輪郭の変化を求める個人に適用し得る。手術前評価は、その処置に関連する全ての危険性および利点を開示する徹底的なインフォームドコンセントに加えて、ルーチンの履歴および身体検査を典型的に含む。10

【0085】

本明細書に開示されるヒドロゲル組成物および方法は、軟組織状態の治療において有用である。軟組織状態は、非限定的に、軟組織の欠点、欠損、疾患、および／または障害を含む。軟組織状態の非限定的な例は、例えば、胸の増大、胸の再構築、乳房固定、小乳房症、胸部発育不全、ポーランド症候群、カブセルの収縮および／または破裂等の移植合併症に起因する欠陥等の、胸の欠点、欠損、疾患、および／または障害、例えば、顔面の増大、顔面の再構築、メソセラピー、パリー ロンバーグ症候群、深在性エリテマトーデス、皮膚の穴、傷跡、こけた頬、薄い唇、鼻の欠点もしくは欠損、後眼窩の欠点もしくは欠損、眉間の線、鼻唇の線、口周囲の線、および／もしくはほうれい線等の顔のひだ、線、および／もしくはしわ、および／または顔面の他の輪郭の欠陥もしくは欠点等の、顔の欠点、欠損、疾患、または障害、首の欠点、欠損、疾患、または障害、皮膚の欠点、欠損、疾患、および／または障害、例えば、上腕、前腕、手、肩、背中、腹部を含む胴、臀部、腿、ふくらはぎを含む下腿、足底皮下脂肪を含む足、眼、生殖器、または他の体の部分、領域、もしくは範囲の増大または再構築等の、他の軟組織の欠点、欠損、疾患、および／または障害、またはこれらの体の部分、領域、もしくは範囲に影響する疾患または障害、失禁、大便失禁、他の形態の失調、および胃食道逆流疾患（G E R D）を含む。本明細書中で使用されるとき、用語「メソセラピー」は、上皮、真皮上皮の接合部、および／または真皮に小さな多数の液滴として投与される薬剤の上皮内、皮内、および／または皮下注入を含む、皮膚の非外科的美容処置技術を指す。20

【0086】

本明細書に開示される方法のいずれかで使用されるヒドロゲル組成物の量は、所望される変化および／または改善、所望される軟組織状態の症状の低下および／または消去、個人および／または医師により所望される臨床的および／または美容的効果、ならびに治療される体の部分または領域に基づいて典型的に決定されるであろう。組成物投与の有効性は、以下の臨床的および／または美容的測定：軟組織の形の変化および／または改善、軟組織の大きさの変化および／または改善、軟組織の輪郭の変化および／または改善、組織機能の変化および／または改善、組織内植の支持および／または新規コラーゲン沈着、組成物の移植維持、患者の満足および／または生活の質の改善、ならびに埋没可能な外来物質の使用の減少のうちの1つ以上により表され得る。30

【0087】

顔面の軟組織の治療におけるその組成物および方法の有効性は、以下の臨床的および／または美容的測定：唇、頬、もしくは眼領域の大きさ、形、および／または輪郭の増大のような顔面の造作の大きさ、形、および／または輪郭の増大、唇、頬、もしくは眼領域の形の大きさ、形、および／または輪郭の変化のような顔面の造作の大きさ、形、および／または輪郭の変化、皮膚のしわ、ひだ、もしくは線の減少または消去、皮膚のしわ、ひだ40

、または線に対する抵抗性、皮膚の水分補給、皮膚の弾力性の増加、皮膚の粗さの低下または消去、皮膚緊縮性の増加および／または改善、ストレッチマークの減少または消去、皮膚の色調、つや、明るさ、および／もしくは輝きの増加ならびに／または改善、皮膚の色の増加および／または改善、皮膚の青白さの低下または消去、組成物の移植維持、副作用の減少、患者の満足および／または生活の質の改善のうちの1つ以上により表され得る。

【0088】

なおも別の例として、尿失禁処置について、括約筋支持のための組成物および方法の有効性は、以下の臨床的測定：失禁頻度の減少、移植維持、患者の満足および／または生活の質の改善、ならびに埋没可能な外来性充填剤の使用の減少のうちの1つ以上により表され得る。

10

【0089】

この実施形態の態様において、投与されるヒドロゲル組成物の量は、例えば、約0.01g、約0.05g、約0.1g、約0.5g、約1g、約5g、約10g、約20g、約30g、約40g、約50g、約60g、約70g、約80g、約90g、約100g、約150g、または約200gである。この実施形態の他の態様において、投与されるヒドロゲル組成物の量は、例えば、約0.01g～約0.1g、約0.1g～約1g、約1g～約10g、約10g～約100g、または約50g～約200gである。この実施形態のなおも他の態様において、投与されるヒドロゲル組成物の量は、例えば、約0.01mL、約0.05mL、約0.1mL、約0.5mL、約1mL、約5mL、約10mL、約20mL、約30mL、約40mL、約50mL、約60mL、約70mL、約80mL、約90mL、約100mL、約150mL、または約200mLである。この実施形態の他の態様において、投与されるヒドロゲル組成物の量は、例えば、約0.01mL～約0.1mL、約0.1mL～約1mL、約1mL～約10mL、約10mL～約100mL、または約50mL～約200mLである。

20

【0090】

治療期間は、個人および／または医師により所望される美容的および／または臨床的效果、ならびに治療される体の部分または領域に基づいて典型的に決定されるであろう。この実施形態の態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の投与は、例えば、約6ヶ月、約7ヶ月、約8ヶ月、約9ヶ月、約10ヶ月、約11ヶ月、約12ヶ月、約13ヶ月、約14ヶ月、約15ヶ月、約18ヶ月、または約24ヶ月間、軟組織状態を治療し得る。この実施形態の他の態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の投与は、例えば、少なくとも6ヶ月、少なくとも7ヶ月、少なくとも8ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも10ヶ月、少なくとも11ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも13ヶ月、少なくとも14ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、または少なくとも24ヶ月間、軟組織状態を治療し得る。この実施形態のさらなる態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の投与は、例えば、約6ヶ月～約12ヶ月、約6ヶ月～約15ヶ月、約6ヶ月～約18ヶ月、約6ヶ月～約21ヶ月、約6ヶ月～約24ヶ月、約9ヶ月～約12ヶ月、約9ヶ月～約15ヶ月、約9ヶ月～約18ヶ月、約9ヶ月～約21ヶ月、約6ヶ月～約24ヶ月、約12ヶ月～約15ヶ月、約12ヶ月～約18ヶ月、約12ヶ月～約21ヶ月、約12ヶ月～約24ヶ月、約15ヶ月～約18ヶ月、約15ヶ月～約21ヶ月、約15ヶ月～約24ヶ月、または約21ヶ月～約24ヶ月間、軟組織状態を治療し得る。

30

【0091】

本明細書の態様は、一部分において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の投与を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「投与」は、臨床的に、治療的に、または実験的に有益な結果をもたらす可能性のある、本明細書に開示される組成物を個人に提供するいずれの送達機構をも意味する。個人に組成物を投与するために使用される実際の送達機構は、非限定的に、皮膚状態の型、皮膚状態の位置、皮膚状態の原因、皮膚状態の重篤さ、所望される軽減の程度、所望される軽減の期間、使用される特定の組成物、使用さ

40

50

れる特定の組成物の排泄速度、使用される特定の組成物の薬力学、使用される特定の組成物中に含まれる他の化合物の性質、特定の投与経路、例えば、年齢、体重、一般的な健康等の、個人の特定の特徴、履歴、および危険因子、またはそれらの組み合わせを含む要因を考慮に入れることにより当業者に決定され得る。この実施形態の一態様において、本明細書に開示される組成物は、注入により個人の皮膚領域に投与される。

【0092】

個々の患者へのヒドロゲル組成物の投与経路は、個人および／または医師により所望される美容的および／または臨床的效果、ならびに治療される体の部分または領域に基づいて典型的に決定されるであろう。本明細書に開示される組成物は、非限定的に、針を伴うシリング、ピストル（例えば、油空圧ピストル）、カテーテル、局所的なもの、または直接的な外科的埋没によるものを含む当業者に既知のいずれの手段によっても投与され得る。本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、例えば、皮膚領域もしくは皮下組織領域等の、皮膚領域に投与され得る。例えば、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、約0.26mm～約0.4mmの直径および約4mm～約14mmに及ぶ長さの針を利用して注入され得る。代替的に、その針は21～32Gであり、かつ約4mm～約70mmの長さを有し得る。好ましくは、針は、使い捨ての針である。針は、シリング、カテーテル、および／またはピストルと結合され得る。

10

【0093】

加えて、本明細書に開示される組成物は、一回または複数回にわたり、投与され得る。最終的に、使用されるタイミングは、良質医療の基準に従うであろう。例えば、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、1回、または数日間もしくは数週間空けたセッションでいくつかのセッションにわたり投与され得る。例えば、個人は、1、2、3、4、5、6、もしくは7日毎、または1、2、3、もしくは4週間毎に本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を投与され得る。個人への本明細書に開示されるヒドロゲル組成物の投与は、毎月または隔月の頻度であるか、または3、6、9、または12ヶ月毎に投与され得る。

20

【0094】

本明細書の態様は、一部分において、皮膚領域を提供する。本明細書中で使用されるとき、用語「皮膚領域」は、上皮皮膚接合部、ならびに表層真皮（乳頭状領域）および深層真皮（網状領域）を含む真皮を含む、皮膚の領域を指す。皮膚は、3つの主要な層である、防水性を提供し、かつ感染に対するバリアとして働く上皮、皮膚の付属物のための場所として働く真皮、および皮下組織（皮下脂肪層）から成る。上皮は、血管を含有せず、真皮からの拡散により養われる。上皮を作り上げる細胞の主な型は、ケラチノサイト、メラノサイト、ランゲルハンス細胞、およびメルケル細胞である。

30

【0095】

真皮は、結合組織からなる上皮の下の皮膚層であり、圧力および歪みから体を保護する。真皮は、基部膜により上皮にしっかりと結合される。それはまた、触覚および温覚を与える、多くの機械受容器／神経末端を抱えもする。それは、毛包、汗腺、皮脂腺、アポクリン汗腺、リンパ管、および血管を含有する。真皮中の血管は、栄養を提供し、かつその細胞自体からのおよび上皮の基底細胞層からの除去物を廃棄する。真皮は、構造的に2つの領域：乳頭状領域と呼ばれる上皮に近い表面領域、および網状領域として知られる深くより厚い領域に分けられる。

40

【0096】

乳頭状領域は、ゆるい乳輪状結合組織からなる。それは、上皮に向かって伸びる乳頭突起と呼ばれるその指のような突起部にちなんで名付けられる。乳頭突起は、上皮と互いに組み合わさる「でこぼこの」表面を真皮に提供し、その2つの皮膚層間結合を増強する。網状領域は、乳頭状領域中に深く存在し、かつ通常はるかにより厚い。それは、密集した不規則な結合組織からなり、それ全体を織りなすコラーゲン性の、弾力性の、および網状の纖維の密集からその名前が付けられている。これらのタンパク質纖維は、真皮の強度、拡張性、および弾力性の特性を提供する。髪の毛の根元、皮脂腺、汗腺、受容体、爪、お

50

および血管もまた、網状領域内に位置する。入れ墨のインクは、真皮中に保持される。妊娠による妊娠線もまた、真皮中に位置する。

【0097】

皮下組織は、真皮の下に存在する。その目的は、下にある骨および筋肉に皮膚の皮膚領域を結合すること、および皮膚領域に血管および神経を供給することである。それは、ゆるい結合組織およびエラスチンからなる。主な細胞型は、線維芽細胞、マクロファージ、および脂肪細胞である（皮下組織は、体脂肪のうちの50%を含有する）。脂肪は、体の詰め物および断熱材として働く。

【0098】

この実施形態の一態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、皮膚領域または皮下組織領域への注入により個人の皮膚領域に投与される。この実施形態の態様において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物は、例えば、上皮皮膚接合領域、乳頭状領域、網状領域、またはそれらの組み合わせへの注入により個人の皮膚領域に投与される。

10

【0099】

有利なことに、本組成物のうちのいくつかは、例えば、患者の薄い皮膚領域における、細線の出現を低減することにおいて特に有用かつ有効である。例えば、患者に、約1mmを超えない深さで、本明細書の他の箇所に記載される皮膚充填剤組成物を投与するステップを含む、細線治療のための方法が提供される。

【0100】

本明細書の他の態様は、一部において、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を、皮膚状態を患有個人に投与するステップを含む、皮膚状態を治療する方法を開示し、ここでその組成物の投与は、皮膚状態を改善し、それにより皮膚状態を治療する。この実施形態の一態様において、皮膚の脱水を治療する方法は、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を、皮膚の脱水を患有個人に投与するステップを含み、その組成物の投与は、皮膚に水分を補給し、それにより皮膚の脱水を治療する。この実施形態の別の態様において、皮膚の弾力性の不足を治療する方法は、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を、皮膚の弾力性の不足を患有個人に投与するステップを含み、その組成物の投与は皮膚の弾力性を増大させ、それにより皮膚の弾力性の不足を治療する。この実施形態のなおも別の態様において、皮膚の粗さを治療する方法は、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を、皮膚の粗さを患有個人に投与するステップを含み、その組成物の投与は、皮膚の粗さを低下させ、それにより皮膚の粗さを治療する。この実施形態のさらに別の態様において、皮膚の緊縮性の不足を治療する方法は、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を、皮膚の緊縮性の不足を患有個人に投与するステップを含み、その組成物の投与は、皮膚をよりぴんと張らせ、それにより皮膚の緊縮性の不足を治療する。

20

【0101】

この実施形態の1つのさらなる態様において、皮膚のストレッチマークを治療する方法は、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を、皮膚のストレッチマークを患有個人に投与するステップを含み、その組成物の投与は、皮膚のストレッチマークを減少させまたは消去し、それにより皮膚のストレッチマークを治療する。この実施形態の別の態様において、皮膚の青白さを治療する方法は、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を、皮膚の青白さを患有個人に投与するステップを含み、その組成物の投与は、皮膚の色調または輝きを増大させ、それにより皮膚の青白さを治療する。この実施形態の別の態様において、皮膚のしわを治療する方法は、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を、皮膚のしわを患有個人に投与するステップを含み、その組成物の投与は、皮膚のしわを減少させまたは消去し、それにより皮膚のしわを治療する。この実施形態のさらに別の態様において、皮膚のしわを治療する方法は、本明細書に開示されるヒドロゲル組成物を個人に投与するステップを含み、その組成物の投与は、皮膚のしわに対して皮膚を抵抗性にさせ、それにより皮膚のしわを治療する。

30

【0102】

40

50

いくつかの実施形態において、皮膚充填剤は、持続的な生物学的利用能を有する。例えば、(例えば、顔面のくぼみの軟組織の欠損の修正のためにヒトに皮内でまたは皮下で)ヒトの皮膚に導入されたときに、ヒトにアスコルビン酸(または他のビタミン)を少なくとも約1ヶ月~最大約20ヶ月間、またはそれを超えて放出する、皮膚充填剤が提供される。

【0103】

例えば、充填剤の期間と調和したビタミンC有効性の維持を予測するために、結合度についての見積もりがなされる。この見積もりは、エーテル化によるHAへのAA2G結合の形成に基づいた。その製剤は生理学的条件下で安定であるが、細胞膜に結合されたグルコシダーゼによりアスコルビン酸(AsA)の放出を開始する。グルコシダーゼが細胞膜に結合しているという事実のために、AsAの放出は、充填剤/細胞界面で起こる。HA AA2GからのAsAのさらなる放出にHA分解が付随し、AA2Gが線維芽細胞に使用可能になるであろう。AsAの放出はしたがって、AA2G結合度およびHAの期間による。およそ5モル%の結合度を有するゲルは、少なくとも最大1ヶ月間、例えば、3~5ヶ月間、活性ビタミンCを放出し得る。10モル%の結合度を有するゲルは、最大6~8ヶ月間、活性ビタミンCを放出し得る。15モル%の結合度を有するゲルは、最大約10ヶ月間、活性ビタミンCを放出し得る。30モル%では、最大1年半である。

【0104】

【表2】

結合度(モル%)	使用可能な総AsA *(mM)	算出された数字(ヶ月)**
3	2.13	2.8
5	3.55	3.1
1	7.10	6.3
15	10.65	9.4
25	17.75	15.7
30	21.13	18.8

* ゲルのパラメータ：体積 0.1cc、濃度 24mg/mLに基づく。(0.1×24×3%×1000)/(338×0.1)=2.13(mM)

** 仮定：

AsAは一定の速度で放出される。

AsAの有効な濃度は0.05mMであり、2日間超、有効性を維持する。2.13×2/(0.05×30)=2.8(ヶ月)

【0105】

本発明の1つの実施形態において、StarPEGエポキシドと架橋結合されたヒアルロン酸を含み、かつ約3モル%~約40モル%の結合度でそのヒアルロン酸に結合されたビタミンC誘導体(例えば、AA2G(アスコルビン酸2-グルコシド)、Vitagen(リン酸L-アスコルビル3-アミノプロピル)、およびSAP(リン酸アスコルビルナトリウム)のうちの1つ)を有する、皮膚充填剤が提供される。

【0106】

この皮膚充填剤の作製方法は、4アームエポキシドによってキャップされたAA2G

10

20

30

40

50

(AA2G-4アームエポキシド)、未反応の4アームエポキシド、および遊離AA2Gを含有する組成物を得るために好適な割合、反応温度、および反応時間で、ペントエリスリトールグリシダールエーテル(Star PEGエポキシド)をアスコルビン酸2グルコシド(AA2G)と反応させることを含む。4アームエポキシドでキャップされたAA2G(AA2G-4アームエポキシド)は、エポキシル基によりヒアルロン酸に結合される。未反応の4アームエポキシドは、ヒアルロン酸を架橋結合するための架橋剤として、およびAA2Gをさらに結合するための結合剤として働く。

【0107】

本発明の別の実施形態において、BDDDEと架橋結合されたヒアルロン酸を含み、かつ約3モル%～約10モル%の結合度でそのヒアルロン酸に結合されたビタミンC誘導体(10 例えば、AA2G(アスコルビン酸2グルコシド)、Vitamin C(リン酸Lアスコルビル3アミノプロピル)、およびSAP(リン酸アスコルビルナトリウム)のうちの1つ)を有する皮膚充填剤が提供される。

【0108】

この皮膚充填剤の作製方法は、BDDDEによってキャップされたAA2G(AA2G-BDDDE)、未反応のBDDDE、および遊離AA2Gを含有する組成物を得るために好適な割合、反応温度、および反応時間で、BDDDEをアスコルビン酸2グルコシド(AA2G)と反応させることを含む。BDDDEでキャップされたAA2G(AA2G-BDDDE)は、エポキシル基によりヒアルロン酸に結合される。未反応のBDDDEは、ヒアルロン酸を架橋結合するための架橋剤として、およびAA2Gをさらに結合するための結合剤として働く。
20

【0109】

図9は、AA2G-PBS溶液からのAsA放出に対するグルコシダーゼ濃度の効果を示す表である。AA2GのAsAへの変換は、グルコシダーゼの濃度による。

グルコシダーゼ濃度がゲル1g当たり6.3ユニットであるとき、AA2Gは15分間でほとんど完全にAsAに変換した。グルコシダーゼ濃度がゲル1g当たり4.7ユニットであるとき、AA2GをAsAに完全に変換するのに30分かかった。さらなるグルコシダーゼ濃度喪失は、AA2GのAsAへの変換を遅くした。

【0110】

図10は、本発明に従う結合された皮膚充填剤からの遊離AsAの放出プロファイルの表示(持続性放出)(モル%でのAA2G変換対反応時間)を示す。AA2Gは、AA2G/HA混合物中で、40分でAsAに完全に変換した。AA2H/HA結合物は、AsAへのAA2G変換の時間依存性を示した。
30

【0111】

図11Aおよび11Bは、本発明に従う様々な皮膚充填剤についての追加の放出データを示す。より具体的には、HA-AA2Gゲル中のAA2GのAsAへの変換は、グルコシダーゼ濃度に依存する。高いグルコシダーゼ濃度は、AA2GのAsAへの変換を速くした。所与のグルコシダーゼ濃度について、様々な製剤が、AA2GのAsAへのそれぞれ異なるプロファイルを示した。
40

【0112】

本発明の一態様において、細線、例えば、皮膚における比較的表層の溝、例えば、限定されないが、眼の周辺の細線、涙の通り道の領域、額、目尻、眉間の線等の出現を治療することおよび消去することにおいて特に有効である、皮膚充填剤が提供される。

【0113】

皮膚充填が注入された皮膚部位における青色の変色の出現(チンダル現象)は、一部の皮膚充填剤の患者によって経験される有意な有害事象である。チンダル現象は、表層の細線じわに対して治療された患者においてより一般的である。チンダル現象からもたらされるいざれの青色の変色もなく、比較的薄い皮膚の領域においてでさえ、細線およびしわを治療するために表層に注入され得る、長期持続性の半透明の充填剤を提供する、本発明の実施形態が開発されてきた。細線または表層のしわは、一般に、皮膚が最も薄い、つまり
50

、皮膚が1mm未満の真皮厚さを有する、顔面の領域（額、外眼角、唇紅境界／口周囲の線）に典型的に見出される、皮膚におけるしわまたは溝であることが理解される。額上で、平均皮膚厚さは、正常な皮膚について約0.95mmおよびしわになった皮膚について約0.81mmである。外眼角周囲の真皮は、さらにより薄い（例えば、正常な皮膚について約0.61mmおよびしわになった皮膚について約0.41mm）。30または32ゲージ針の平均外径（細線ゲル適用に典型的に使用される針）は、約0.30および約0.24mmである。

【0114】

本発明は、チンダル現象をもたらさない、本明細書の他の箇所に記載される皮膚充填剤組成物を提供する。例えば、本発明の組成物は、架橋成分と架橋結合されたヒアルロン酸成分と、架橋成分以外の添加剤とを含み、その組成物は、患者の皮膚領域中に投与されるとき、添加剤を含まないことを除いて実質的に同一である組成物と比べて、低減されたチンダル現象を示す。組成物は、実質的に光透過性であってもよい。

10

【0115】

一実施形態において、添加剤は、ビタミンC誘導体、例えば、本明細書の他の箇所に記載される、ヒアルロン酸に化学的に結合され得るAA2Gである。

【0116】

いくつかの実施形態において、架橋成分は、BDEであり、その結合度は、約3モル%～約10モル%、または最大15モル%もしくはそれよりも大きい。いくつかの実施形態において、組成物は、注入されると患者に安楽を提供するのに好適な量の麻酔剤、例えば、リドカインをさらに含む。

20

【0117】

患者の皮膚における細線を治療する方法もまた提供される。本方法は、一般に、患者の皮膚に、本明細書に記載されるような組成物を導入するステップを含む。例えば、組成物は、ヒアルロン酸成分と、ヒアルロン酸を架橋結合する架橋成分と、架橋成分以外の添加剤との混合物を含み、その組成物は、実質的に光透過性であり、またその皮膚充填剤組成物は、添加剤を含まないことを除いて実質的に同一である組成物と比べて、低減されたチンダル現象を示す。

【0118】

本発明のいくつかの実施形態において、組成物は、EDC化学反応を用いてジアミンまたはマルチアミン架橋剤と架橋結合されたヒアルロン酸成分を含む。例えば、架橋剤は、HMDAであってもよい。

30

【0119】

架橋剤がHMDAである、本発明のある特定の実施形態において、組成物は、最大約70PaのG'、約0.65～約0.75でのG''/G'、約24N以下の押出力、および約24mg/g～約25mg/gの最終HA濃度を有する。

【0120】

添加剤がHA-AA2G結合物またはHA-Vitagen結合物である、本発明のある特定の実施形態において、結合度は、約3モル%～約10モル%、または最大約15モル%、または最大約40モル%である。これらの組成物は、少なくとも約30Pa、より好ましくは少なくとも約40Pa～約100PaのG'、約0.30～約0.50のG''/G'、約27N以下の押出力、および約24mg/g～約25mg/gの最終HA濃度を有してもよい。

40

【0121】

本開示の目的のために、本明細書で使用される「結合度」は、結合物、例えば、ヒアルロン酸の反復単位（例えば、HA二量体）に対するAA2Gの、モル割合として定義される。故に、10モル%の結合度は、100個のHA反復単位につき10個の結合したAA2Gを意味する。結合度は、下の実施例2に例示される方法、または当業者に既知の他の方法を用いて計算することができる。

【実施例】

50

【0122】

実施例1：架橋剤としてBDD Eを用いた、架橋結合されたHAゲルへのAA2G結合

400.6 mgの低分子量ヒアルロン酸(LMW HA)を、シリンジ中の1802 mgの1重量%NaOH中で約30分間水和した。800.7 mgのAA2G、続いて713.7 mgのBDD E、および1416.8 mgの10%NaOHをバイアル中に入れた。上記溶液(pH 12超)を50 の水浴中で約20分間反応させ、その後水和HAに添加した。その添加後、その混合物を、2つのシリンジ間を往復させることにより約20回混合した。その混合ペーストをバイアル中に入れ、50 の水浴中に約2.5時間入れた。223.5 mgの12M HC1を9.05 gのPBS(pH 7.4)に添加した。約2.5時間後、HA AA2Gゲルが形成された。そのゲルを切断して断片にし、HC1 PBS溶液をそれに添加した。そのゲルを中和させ、環状振騰器上で一晩膨潤させた。そのゲルを、約60 μmスクリーンを通してサイズ調整し、2つのシリンジ間を往復させることにより約20回混合した。そのゲルを15,000 MWCO RC透析バッグ中に入れ、PBS緩衝液(pH 7.4)中で透析した。透析を、PBS緩衝液を頻繁に交換しながら約185時間続けた。透析後、そのゲルをシリンジ中に入れ、4 の冷蔵庫内で貯蔵した。

【0123】

実施例2：AA2G結合の決定

実施例1に記載されるゲルの重量を透析直前、および透析後に書き留めた。そのゲルが透析後に約1 g / mLであったと想定した。透析を、1 LのPBS中で8時間超につき、顕著なAA2Gが出てこなくなった点で止めた。そのAA2Gを、UV/VIS分光光度計(Nanodrop 2000C, ThermoScientific)を用いて260 nmで測定した。AA2Gの較正曲線を、2% HA中の異なる濃度のAA2Gを用いて計算した(260 nmでの吸収 = 1.4838 [AA2G (mM)])。

【0124】

透析後のHAの重量 : HAの出発重量 × (透析前の実際の重量 / 理論的重量)

【0125】

透析後のAA2Gのmmol : 式(260 nmでの吸収 = 1.4838 [AA2G (mM)])中に透析後の260 nmでの吸収を入れた。

【0126】

AA2Gでの結合 : (AA2G (mmol) / HA (mmol)) × 100 %

実施例1に記載されるゲル中のAA2G結合度は、14.7モル%である。

【0127】

実施例3：ゲルの流体力学的特性の決定

振動平行プレートレオメータ(Anton Paar, Physica MCR 301)を、実施例1で得られたゲルの特性を測定するために使用した。使用されたプレートの直径は25 mmであった。そのプレート間のギャップを1 mmに設定した。各測定について、一定の歪みでの周波数掃引を最初に、その後、固定周波数での歪み掃引を行った。G' (貯蔵弾性係数)を1%の歪みでの歪み掃引曲線から得た。そのゲルについてのその値は、1450 Paである。

【0128】

実施例4：可変性の結合度およびゲル流体力学的特性を有する、架橋剤としてBDD Eを用いた、架橋結合されたHAゲルへのAA2G結合

本手順は、実施例1に記載されるものと類似した。結合度は、架橋剤対HAおよびAA2Gモル比を調整することにより修正される。ゲル特性を、実施例3に記載されるように測定した。詳細は、以下の通りである：

【0129】

400.8 mgのLMW HAを、シリンジ中の1752.1 mgの1%NaOH中で約30分間水和した。800.3 mgのAA2G、続いて354.1 mgのBDD E、および1402.0 mgの10%NaOHをバイアル中に入れた。上記溶液(pH 12超)

10

20

30

40

50

を 50 の水浴中で約 20 分間反応させ、その後水和 HA に添加した。その添加後、その混合物を、2つのシリンジ間を往復させることにより約 20 回混合した。その混合ペーストをバイアル中に入れ、50 の水浴中に約 2.5 時間入れた。140.9 mg の 12 M HCl を 9.0053 g の PBS (pH 7.4) に添加した。約 2.5 時間後、HA AA2G ゲルが形成された。そのゲルを切断して断片にし、HCl PBS 溶液をそれに添加した。そのゲルを中和させ、環状振騰器上で一晩膨潤させた。そのゲルを、約 60 μm スクリーンを通してサイズ調整し、2つのシリンジ間を往復させることにより約 20 回混合した。そのゲルを 15,000 MWCO RC 透析バッグ中に入れ、PBS 緩衝液 (pH 7.4) 中で透析した。透析を、PBS 緩衝液を頻繁に交換しながら約 164.5 時間続けた。透析後、そのゲルをシリンジ中に入れ、4 の冷蔵庫内で貯蔵した。結合度は 13 % である。ゲル貯蔵弾性係数 (G') は、803 Pa である。
10

【0130】

実施例 5：架橋剤として BDD E を用いた、架橋結合された HA ゲルへの AA2G 結合。
結合度は 5.3 % であり、G' は約 300 Pa である。

400.3 mg の LMW HA を、シリンジ中の 3002.0 mg の 1% NaOH 中で約 30 分間水和した。800.5 mg の AA2G、続いて 264.3 mg の BDD E、および 1100.0 mg の 10% NaOH をバイアル中に入れた。上記溶液 (pH 12 超) を 50 の水浴中で約 20 分間反応させ、その後水和 HA に添加した。その添加後、その混合物を、2つのシリンジ間を往復させることにより約 20 回混合した。その混合ペーストをバイアル中に入れ、50 の水浴中に約 2.5 時間入れた。104.2 mg の 12 M HCl を 8.5128 g の PBS (pH 7.4) に添加した。約 2.5 時間後、HA AA2G ゲルが形成され、HCl PBS 溶液をそれに添加した。そのゲルを中和させ、環状振騰器上で週末にかけて（約 55 時間）膨潤させた。そのゲルを、約 60 μm スクリーンを通してサイズ調整し、2つのシリンジ間を往復させることにより約 20 回混合した。そのゲルを 15,000 MWCO RC 透析バッグ中に入れ、PBS 緩衝液 (pH 7.4) 中で透析した。透析を、PBS 緩衝液を頻繁に交換しながら約 114 時間続けた。透析後、そのゲルをシリンジ中に入れ、4 の冷蔵庫内で貯蔵した。結合度およびゲル流体力学的特性を、実施例 2 および 3 に記載される手順で測定する。結合度は 5.3 % である。ゲル貯蔵弾性係数は約 300 Pa である。
20

【0131】

実施例 6：架橋剤として star PEG エポキシドを用いた、架橋結合された HA ゲルへの AA2G 結合。
結合度は 29.4 % であり、G' は約 235 Pa である。

200.4 mg の LMW HA を、シリンジ中の 2000 mg の 1% NaOH 中で約 30 分間水和した。400 mg の AA2G、続いて 312.7 mg の star PEG エポキシド、および 1026.5 mg の 10% NaOH をバイアル中に入れた。上記溶液を 50 の水浴中で約 20 分間反応させ、その後水和 HA に添加した。その添加後、その混合物を、2つのシリンジ間を往復させることにより約 20 回混合した。その混合ペーストをバイアル中に入れ、50 の水浴中に約 2.5 時間入れた。187.4 mg の 12 M HCl を 3.034 g の PBS (pH 7.4) に添加した。約 2.5 時間後、HA AA2G ゲルが形成され、HCl PBS 溶液をそれに添加した。そのゲルを中和させ、環状振騰器上で週末にかけて（約 68 時間）膨潤させた。そのゲルを、約 60 μm スクリーンを通してサイズ調整し、2つのシリンジ間を往復させることにより約 20 回混合した。そのゲルを 15,000 MWCO RC 透析バッグ中に入れ、PBS 緩衝液 (pH 7.4) 中で透析した。透析を、PBS 緩衝液を頻繁に交換しながら約 95 時間続けた。透析後、そのゲルをシリンジ中に入れ、4 の冷蔵庫内で貯蔵した。結合度およびゲル流体力学的特性を、実施例 2 および 3 に記載される手順で測定する。結合度は 29.4 % である。ゲル貯蔵弾性係数は約 235 Pa である。
40

【0132】

実施例 7：架橋剤として star PEG エポキシドを用いた、架橋結合された HA ゲルへの AA2G 結合。
結合度は 27.8 % であり、G' は約 363 Pa である。

200.3mgのLMW HAを、シリンジ中の2000mgの1%NaOH中で約30分間水和した。400.2mgのAA2G、続いて313.4mgのstar PEGエポキシド、および1022.6mgの10%NaOHをバイアル中に入れた。上記溶液を水和HAに添加した。その添加後、その混合物を、2つのシリンジ間を往復させることにより約20回混合した。その混合ペーストをバイアル中に入れ、50°の水浴中に約2.5時間入れた。196.5mgの12M HClを3.016gのPBS(pH7.4)に添加した。約2.5時間後、HA AA2Gゲルが形成され、HCl PBS溶液をそれに添加した。そのゲルを中和させ、環状振騰器上で一晩(約24時間)膨潤させた。そのゲルを、約60μmスクリーンを通してサイズ調整し、2つのシリンジ間を往復させることにより約20回混合した。そのゲルを15,000MWCO RC透析バッグ中に入れ、PBS緩衝液(pH7.4)中で透析した。透析を、PBS緩衝液を頻繁に交換しながら約98.5時間続けた。透析後、そのゲルをシリンジ中に入れ、4°の冷蔵庫内で貯蔵した。結合度およびゲル流体力学的特性を、実施例2および3に記載される手順で測定する。結合度は27.8%である。ゲル貯蔵弾性係数は約363Paである。

【0133】

実施例8：架橋剤としてB D D Eを用いた、架橋結合されたHMW HAゲルへのAA2G結合。結合度は10モル%であり、G'は約240Paである。

400.3mgのHMW HAを、シリンジ中の2501.3mgの4重量%NaOH中で約30分間水和した。1200mgのAA2G、続いて304.7mgのB D D E、および1178.6mgの16重量%NaOHをバイアル中に入れた。上記溶液(pH12超)を50°の水浴中で約20分間反応させ、20ccのシリンジに移し、その後水和HAに添加した。その添加後、その混合物を2つのシリンジ間を往復させることにより約20回混合した。その混合ペーストを20ccバイアル中に入れ、50°の水浴中に約2.5時間入れた。約2.5時間後、HA AA2Gゲルが形成された。その後、226.6mgの12M HClを8492.2mgの10倍PBS(pH7.4)に添加して、HCl PBS溶液を得、そのHCl PBS溶液を添加して、ゲルを中和させ、膨潤させた。そのゲルを環状振騰器上で48時間にわたり中和させ、膨潤させた。そのゲルを、約60μmスクリーンを通してサイズ調整し、2つのシリンジ間を往復させることにより約20回混合した。そのゲルを20,000MWCO CE透析バッグ中に入れ、PBS緩衝液(pH7.4)中で透析した。透析を、PBS緩衝液を頻繁に交換しながら約114時間続けた。透析後、そのゲルをシリンジ中に入れ、4°の冷蔵庫内で貯蔵した。結合度およびゲル流体力学的特性を、実施例2および3に記載される手順で測定する。結合度は約10モル%である。ゲル貯蔵弾性係数は約240Paである。

【0134】

実施例9：架橋剤としてB D D Eを用いた、架橋結合されたLMW HAゲルへのVitagen結合。結合度は15モル%であり、G'は約365Paである。

398.2mgのLMW HAを、シリンジ中の1753.24mgの1重量%NaOH中で約40分間水和した。B D D E(311.7mg)を膨潤したHAに添加し、HAをさらなる80分間、膨潤させ続けた。膨潤したHA/B D D E混合物を50°で20分間予め反応させた。

【0135】

801.9mgのVitagenを1459.7mgの10重量%NaOH中で別に溶解させ、B D D Eと予め反応させたHAと混合した。その混合物を50°でさらなる2.5時間、反応させ続けた。約2.5時間後、HA Vitagenゲルが形成された。次いで、195mgの12M HClを9004.0mgの10倍PBS(pH7.4)に添加して、HCl PBS溶液を得、そのHCl PBS溶液を添加して、ゲルを中和させ、膨潤させた。そのゲルを環状振騰器上で48時間にわたり中和させ、膨潤させた。そのゲルを、約60μmスクリーンを通してサイズ調整し、2つのシリンジ間を往復させることにより約20回混合した。そのゲルを20,000MWCO CE透析バッグ中に入れ、PBS緩衝液(pH7.4)中で透析した。透析を、PBS緩衝液を頻繁に交換しな

がら約120時間続けた。透析後、そのゲルをシリンジに入れ、4の冷蔵庫内で貯蔵した。ゲル流体力学的特性を、実施例3に記載される手順で測定した。結合度を、実施例2に記載されるAA2G決定と類似の方法を用いて、約15モル%と決定した。ゲル貯蔵弾性係数は約365Paである。

【0136】

実施例10：アミド化化学反応による直鎖状HAへのVitagen結合

200.3mgのHMW HAを60ccのシリンジ中の10mLの水中で水和した。500mgのVitagenを0.5mLの水中に溶解させ、溶液をpH4.8まで中和した。197.7mgのEDCおよび149mgのNHSを6mLの水中で別に溶解させた。上記溶液（溶液およびEDC/NHS溶液）を、23.5mLの水を含有する別の60ccシリンジに添加する。その2つのシリンジを、2つのシリンジ間を往復させることにより20回混合する。その混合物を1つのシリンジ中で貯蔵し、37の浴中に4時間浸した。最後に、その溶液を、顕著なVitagenが観察されなくなるまで、PBS緩衝液（pH7.4）に対して透析した。結合度を、実施例3に記載される方法と類似の方法により決定した。結合度は約10モル%である。

【0137】

実施例11：架橋結合されたHAゲルへのAA2P結合

200.4mgのLMW HAを、シリンジ中の1000mgのMES 5.2緩衝液中で約30分間水和する。292mgのAA2Pをバイアル中に入れ、続いて300mgのstar PEGアミンを添加する。上記溶液を室温で一晩反応させる。そのゲルをPBS緩衝液で水和し、PBS緩衝液に対して透析して、未反応のAA2Pを除去した。最終的なゲルを実施例2および3に記載されるように特徴付けて、結合度およびゲル流体力学的特性を決定した。結合度は約20モル%である。貯蔵弾性係数（G'）は約500Paである。

【0138】

実施例12

細線の出現を低減するための、AA2Gを有するHA/BDD皮膚充填剤製品の製剤化

上記実施例に記載されるゲルのいずれかに対して、透析後、好適な量の遊離HAゲルをそのゲルに添加して、ゲルの粘着性および/または注入可能性の修正を改善し得る。例えば、均一な粘弹性ゲル（「遊離」HAゲル）を得るために、遊離HA纖維をリン酸緩衝液中で膨潤させる。（例えば、約1w/w%～約5w/w%の遊離HAを有する組成物を得るために）この非架橋結合ゲルを、透析ステップ前に、実施例1で得られたHA/BDD皮膚充填剤製品に添加する。結果として生じるゲルを次いで、処理済み滅菌シリンジ中に満たし、滅菌のために十分な温度および圧で少なくとも約1分間オートクレーブにかける。オートクレーブ後、最終的なHA/AA2G製品を包装し、目尻または他の顔面領域における細線の出現を改善する表層注入のための皮膚充填剤として使用するために医師に配布する。

【0139】

実施例13

リドカインを含むHA AA2G皮膚充填剤の製剤化

実施例12の手順に従うが、透析ステップ後、かつ遊離HAゲル添加前に、リドカインクロル水和物（リドカインHC1）をその混合物に添加する。粉末形態の（リドカインHC1）を最初にWF1中で可溶化し、0.2μmフィルターを通してろ過し得る。希釈NaOH溶液を、わずかに塩基性のpH（例えば、約7.5～約8のpH）に到達させるために、その粘着性HA/AA2Gゲルに添加する。そのリドカインHC1溶液を次いで、そのわずかに塩基性のゲルに添加して、最終的に所望される濃度、例えば、約0.3w/w%の濃度に到達させる。すると、HA/AA2G/リドカイン混合物の結果として生じるpHは、約7であり、HA濃度は、約24mg/gである。適切なブレンダー機構を備えた標準の反応器中で、適切な均一性を得るために機械的混合を行う。

【0140】

10

20

30

40

50

実施例 1 4H A ヒドロゲルへのカルボキシル官能基を含有する添加剤の結合

レチノイン酸（トレチノインとしても知られる）、アダパレンス（adapalene）、およびアルファリポ酸等の添加剤は、カルボキシル官能基（COOH）を含有する。これらの添加剤は、EDC化学反応を用いたエステル化によりH Aヒドロゲルに結合される。本発明のある実施形態に従う結合についての実施例は、以下のように説明される：

【0141】

200mgのH MW H Aを60ccシリングジ中の10mLのMES緩衝液（pH4.8）中で水和する。別のシリングジ中で、200mgのレチノイン酸を5mLの水アセトン混合物（水/アセトン体積比1:3）中に溶解させる。上記2つのシリングジをシリングジ接続器により約20回混合する。次いで、197.7mgのEDCおよび149mgのNHSを別のシリングジ中の6mLの水中で別に溶解させる。EDCおよびNHSを含有するシリングジを、H Aおよびレチノイン酸を含有するシリングジと接続し、2つのシリングジ間を往復させることにより反応物を少なくとも20回混合する。その混合物を1つのシリングジ中で貯蔵し、37の浴中に4時間浸す。そのゲルをイソプロパノールに対して透析して、未結合のレチノイン酸を除去し、次いで、無菌条件下でPBS緩衝液に対して透析する。そのゲルを滅菌シリングジ中に包装し、4で貯蔵する。

【0142】実施例 1 5H A ヒドロゲルへのヒドロキシル官能基を含有する添加剤の結合

レチノール（トレチノインとしても知られる）、カタラーゼ、ジメチルアミノエタノール、およびgトコフェロール等の添加剤は、ヒドロキシル官能基（OH）を含有する。これらの添加剤は、EDC化学反応を用いたエステル化によりH Aヒドロゲルに結合される。結合についての典型的な実施例は、以下のように説明される：

【0143】

200mgのH MW H Aを60ccのシリングジ中の10mLの2（Nモルホリノ）エタンスルホン酸（MES）緩衝液（pH4.8）中で水和する。別のシリングジ中で、200mgのレチノール酸を5mLの水アセトン混合物（水/アセトン体積比1:3）中に溶解させる。上記2つのシリングジをシリングジ接続器により約20回混合する。次いで、197.7mgのEDCおよび149mgのNHSを別のシリングジ中の6mLの水中で別に溶解させる。EDCおよびNHSを含有するシリングジをH Aおよびレチノールを含有するシリングジに接続し、2つのシリングジ間を往復させることにより反応物を少なくとも20回混合する。その混合物を1つのシリングジ中で貯蔵し、37の浴中に4時間浸す。そのゲルをイソプロパノールに対して透析して、未結合のレチノールを除去し、次いで、無菌条件下でPBS緩衝液に対して透析する。そのゲルを滅菌シリングジ中に包装し、4で貯蔵する。

【0144】実施例 1 6修飾後のH Aヒドロゲルへのヒドロキシル官能基を含有する添加剤の結合

これは、2ステップのプロセスである。

【0145】

ステップ1：架橋結合されたH Aゲル、例えば、市販のH Aベースの皮膚充填剤、例えば、JUVADERM（登録商標）、Allergan、Irvine CA、またはRestylane（登録商標）Medicis AestheticsをEDC/NHSで処理して、H Aのカルボキシル基を活性化する。

【0146】

ステップ2：活性化されたH Aヒドロゲルを、ヒドロキシル基を含有する添加剤で処理する。ヒドロキシル基を含有する添加剤は、レチノール、カタラーゼ、ジメチルアミノエタノール、およびgトコフェロールヒドロキシル官能基（OH）である。

10

20

30

40

50

【0147】

架橋結合されたHAゲルへの添加剤の結合についての典型的な実施例は、以下の通りである：

【0148】

2mgのJuvedermゲルを200mgのEDCおよび150mgのNHSと室温で混合する。次いで、3mLのアセトン水混合物中の200mgのレチノールを添加する。上記混合物を37度で4時間反応させる。そのゲルをイソプロパノールに対して透析して、未結合のレチノールを除去し、次いで、無菌条件下でPBS緩衝液に対して透析する。そのゲルを滅菌シリンジ中に包装し、4度貯蔵する。

【0149】

10

実施例17**HAヒドロゲルへの成長因子、ペプチド、またはエラスチンの結合**

官能アミン基を含有する、上皮成長因子(EGF)、形質転換成長因子(TGF)、およびペプチド等の添加剤をHAに結合させて、有益な皮膚充填剤を形成し得る。これらの添加物は、アミド化化学反応によりHAに結合される。結合についての典型的な実施例は、以下のように説明される：

【0150】

200.3mgのHMW HAを10mLのMES緩衝水(pH5.4)中で水和する。100mgのMES溶液中の20mgのEGFを添加する。上記混合物に、197.7mgのEDCおよび149mgを添加する。結果として生じる反応混合物を37度で4時間反応させる。反応完了後、そのゲルをイソプロパノールに対してさらに透析し、次いで、無菌条件下でPBS緩衝液に対して透析する。そのゲルを滅菌シリンジ中に包装し、4度貯蔵する。

20

【0151】

本発明は、移植された脂肪組織の生存率を向上させる方法をさらに提供する。この方法は、一般に、組成物を、移植された脂肪組織に隣接する患者の皮膚中に導入するステップを含み得、その組成物は、本明細書の他の箇所に記載される組成物である。例えば、組成物は、ヒアルロン酸およびヒアルロン酸に共有結合されたビタミンC誘導体を含み得、その結合度は、約3モル%～約40モル%である。本発明の他の態様において、皮膚を治療するための方法は、皮膚中に、脂肪組織と、ヒアルロン酸と、ヒアルロン酸に結合されたビタミンCとを含む組成物を導入することを含む。

30

【0152】**実施例18****HAヒドロゲルへの成長因子、ペプチド、またはエラスチンの結合**

ヒト脂肪組織由来幹細胞(hASC)に対するビタミンCおよびその誘導体の分裂促進効果を評価するために、hASCを、組織培養プラスチック上で、遊離型のビタミンC(アスコルビン酸)またはその誘導体(VitagenまたはAA2G)を補充したまたは補充しない完全MesenPro培地(Invitrogen, Carlsbad, CA)中で4日間培養した。増殖を、MTTアッセイによって、製造業者(ATCC, Manassas, VA)によって記載されるように評価した。4日後、アスコルビン酸の0.25、0.5、および1mMの濃度が、それぞれ、アスコルビン酸を欠いた対照を60%、80%、および96%上回って、増殖を向上させることが見出された(デヒドロゲナーゼ酵素による、黄色のテトラゾリウムMTTの、紫色のホルマザンへの変換の量によって測定(紫色のホルマザンは、洗剤によって可溶化する))。AA2Gの同じ濃度の使用は、それぞれ、対照を70%、60%、および50%を上回る増殖向上をもたらした。同様の結果がVitagenにより得られ、それぞれ、対照を70%、60%、および30%上回る増加を示した。要約すると、ビタミンCならびにその誘導体AA2GおよびVitagenは、成長因子含有培地の存在下で、細胞培養物中のhASC増殖を向上させる。

40

【0153】**架橋結合されたビタミンCを有する架橋結合されたHAゲル**

50

低減されたチンダル現象および他の利点を示す本発明のある特定の実施形態に従う、架橋結合されたビタミンCを有し、架橋剤として1,4-ブタンジオール(butaediol)ジグリシジルエーテル(BDDE)を用いる、架橋結合されたHAベースのゲルの調製が、下の実施例19および20に記載される。実施例19において、ビタミンC誘導体は、アスコルビン酸2-グルコシド(AA2G)であり、実施例20において、ビタミンC誘導体は、リン酸アスコルビル3アミノプロピル(Vitagen)である。これらのゲルは、最適な流体力学的特性、優れた注入可能性、および高いHA濃度(25mg/g)を有する。いかなる特定の操作理論にも拘束されることを望むものではないが、本発明者らによって、AA2GまたはVitagenのいずれかの存在下で、HAをBDDEと架橋結合することにより、ゲルの特性が大幅に変化し、そのゲルが、BDDEと架橋結合された市販のHAゲルと比べて、高い架橋結合密度、高いHA濃度、低い粘度、および低い押出力を有することが発見されている。AA2GまたはVitagenが架橋結合の間に存在するので、形成されたこのゲルは、ペンダント(pendant)基として、かつHA鎖を単独でまたはBDDEを介してのいずれかで橋渡しする架橋剤の両方として、HA鎖に連結されたこれらのアスコルビン酸誘導体を有する。ゲルの顕微鏡的構造は大幅に変化し、針が30ゲージもの細さであっても、非常に低い押出力を有するゲルをもたらす。さらに、そのゲルは、約3モル%~約10モル%、または最大約15モル%のHAに結合されたビタミンCを有する。ゲルが注入されるとき、それらは、線維芽細胞またはホスホターゼ(phosphotase)から、-グルコシダーゼ等の内因性酵素によって、活性ビタミンCを放出する。活性ビタミンCは、皮膚コラーゲン新生を誘発し得、ゲル分解を阻害するラジカルスカベンジャーとして作用し得る。

【0154】

実施例19低減されたチンダル現象を伴うHA/AA2Gゲルの製剤化

シリソジ中の400.1mgのLMW HAおよび402.3mgのAA2Gの混合物を、1764.0mgの5重量%NaOH溶液を添加した後に約60分間水和した。別個のバイアル中に、800.8mgのAA2G、続いて1401.1mgの9.1重量%NaOH溶液、および252.6mgのBDDEを添加した。結果として生じた溶液(pH12超)を50の水浴中で約20分間反応させ、その後それを水和HAに移した。その添加後、その混合物を、2つのシリソジ間を往復させることにより約20回混合した。そのペーストを次いでバイアル中に移し、その後それを50の水浴中に約2.5時間配置した。架橋結合させた後、197.0mgの12M HClおよび9.18gの10倍PBS(pH7.4)を含有する溶液を添加して塩基を中和し、ゲルを環状振騰器上で72時間膨潤させた。ゲルを、約60μm細孔サイズのメッシュに押し通すことによってサイズ調整した。サイズ調整したゲルを、2つのシリソジ間を往復させることにより約20回混合し、その後それを、MWCO約20kDaのセルロースエステル透析バッグ中に移し、PBS緩衝液(pH7.4)に対して、緩衝液を毎日2回交換しながら5日間透析した。透析後、そのゲルを、1mL CQCシリソジ中に分注し、5000RPMで5分間遠心分離して気泡を除去し、湿り蒸氣で滅菌した。ゲルは、25mg/gの最終HA濃度を有し、AA2Gモル%が実施例2に記載されるように計算して約10モル%、G'が約80Paであった。他のゲルを同様の様態で作製し、このうちG'値が約60Pa~約80Paであった。

【0155】

実施例19A低減されたチンダル現象を伴う、リドカインを有するHA/AA2Gの製剤化

実施例19のゲルに、ある量のリドカインを添加して、0.3w/w%リドカインを有するリドカインゲルを含むHA/AA2Gを得た。リドカインの溶液を、リドカインHClをPBS緩衝液(pH約7.4)中に溶解させることによって調製した。リドカイン溶液のアリコートを、透析後であるが滅菌前に、実施例19のゲルに添加した。ゲルを次いで完全に混合して、0.3w/w%リドカイン濃度を有する均一化された混合物を得た。

【0156】

実施例20

低減されたチンドル現象を伴うHA/Vitagenゲルの製剤化

401.0 mg の LMW HA を、シリングジ中の 2355.0 mg の 1 重量% NaOH 溶液中で約 45 分間水和した。303.8 mg BDD E を、水和された HA に添加して、シリングジからシリングジにわたる混合によって 10 回混合した。混合物を 50 の水浴中で 15 分間予め反応させた。800.1 mg の Vitagen を、950.6 mg の 15 重量% NaOH 中に別に溶解させ、続いて 510.1 Milli-Q 水を添加した。Vitagen 溶液を、シリングジからシリングジにわたる混合を使用して 30 回往復させて、予め加熱された水和 HA / BDD E 混合物と混合した。混合物を再び 50 の水浴中に配置し、反応がさらに 2 時間進行し、その後、148.1 mg の 12 M HCl および 8523.1 mg の 10 倍 PBS (pH 7.4) を含有する溶液を、クロスに添加した。HCl - PBS 溶液を添加して、ゲルを中和し、膨潤させた。そのゲルを環状振騰器上で 48 時間にわたり、中和させ、膨潤させた。そのゲルを、約 60 μm スクリーンを通してサイズ調整し、2 つのシリングジ間を往復させることにより約 20 回混合した。そのゲルを 20,000 MWCO CE 透析バッグ中に入れ、PBS 緩衝液 (pH 7.4) 中で透析した。透析を、PBS 緩衝液を頻繁に交換しながら約 197 時間続けた。透析後、そのゲルを 1 mL COC シリングジ中に移し、5000 RPM で 5 分間遠心分離し、湿り蒸気で滅菌した。ゲルの最終 HA 濃度は、24 mg / g であった。

【0157】

10

1-エチル-3-[3-ジメチルアミノプロピル]カルボジイミド塩酸塩(EDC)化学反応を介して架橋結合されたHAゲル

20

低減されたチンドル現象および他の利点を示す本発明のある特定の実施形態に従う、架橋結合された HA ベースのゲルの調製が、下の実施例 21 および 22 に記載される。実施例 21 において、そのゲルは、EDC 化学反応を介して作製され 架橋剤は、ヘキサメチレンジアミン (HMDA) を用い、実施例 20 においては、3-[3-(3-アミノプロポキシ)-2,2-ビス(3-アミノ-プロポキシメチル)-プロポキシ]-プロピルアミン (4 アームのアミン-4-AA) である。架橋結合を、緩やかな条件下、例えば、室温で、および例えば、pH 5.4 で行う。反応条件を調節して、最適なゲル特性、優れた注入可能性、および高い HA 濃度 (約 24 mg / g) を有する、高度に網状のゲルを調製することができる。本発明者らによって、カップリング剤である、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC)および N-ヒドロキシコハク酸イミド(NHS)またはスルホニル-NHS(スルホ-NHS)と組み合わせて、中程度の量の HMDA または 4-AA のいずれかを用いて、HA を非常に低い水和または反応濃度で架橋結合することが有利であり得ることが発見されている。ゲルは、相互に離れた架橋結合点を有することになり、よって、高い減衰力を有する高度に架橋結合された物質となる。対照的に、かかる低い水和または反応濃度での HA の BDD E との架橋結合は、架橋剤が比較的非効率的であるので実行不可能であり得る。

30

【0158】

実施例 21

40

低減されたチンドル現象を伴うHA/HMDAゲルの製剤化

20.0 g の 100 mM MES 緩衝液 (pH 5.2) を、1000.0 mg の LMW HA を含有するシリングジに添加した。HMDA 溶液を、260.9 mg HMDA · HCl を 2010.5 mg の 100 mM MES 緩衝液 (pH 5.2) 中に溶解させ、2 μL の 1 M NaOH を添加して pH を 5.2 にすることによって調製した。EDC 溶液を、254.2 mg の EDC を 1188.4 mg 100 mM MES 緩衝液 (pH 5.2) 中に溶解させることによって調製し、別個のバイアル中で、44.3 mg の NHS を、1341.8 mg の 100 mM MES 緩衝液 (pH 5.2) 中に溶解させた。約 1 時間で、HA が完全に水和すると、790 μL の HMDA 溶液を、水和した HA に添加した。混合物を、10 回のシリングジからシリングジにわたる混合によって均一化した。490 μL

50

の E D C および 4 9 0 μ L の N H S 溶液を次いで、均一化されたペーストに添加し、シリンジからシリンジにわたる混合によって再び 10 回混合した。混合物を次いでバイアルに移し、室温で 5 時間架橋結合させ、その後、17.9 mL の 1 倍 P B S 緩衝液 (pH 7.4) を添加した。ゲルをローラー上で 3 日間膨潤させ、その後、それを 60 μ m 細孔サイズのメッシュに押し通した。サイズ調整したゲルを、M W C O 20 k D a のセルロースエスチル膜透析管類中に配置し、1 倍 P B S に対して、緩衝液を 1 日 2 回交換しながら 4 日間透析した。ゲルを、1 mL C O C シリンジ中に分注し、5000 R P M で 5 分間遠心分離し、湿り蒸気で滅菌した。ゲルの最終 H A 濃度は、25 mg / g であった。

【 0 1 5 9 】

実施例 2 2

10

低減されたチンドル現象を伴う H A / 4 A A ゲルの製剤化

32.55 g の 100 mM MES 緩衝液 pH 5.2 を、1000.4 mg の L M W H A を含有するシリンジに添加した。4 A A 溶液を、256.3 mg の 4 A A を 1039.8 mg の 100 mM MES 緩衝液 (pH 5.2) 中に溶解させ、380 μ L の 6 M H C l を添加して pH を 5.2 にすることによって調製した。E D C 溶液を、251.2 mg の E D C を 1013.8 mg の 100 mM MES 緩衝液 (pH 5.2) 中に溶解させることによって調製し、別個のバイアル中で、74.7 mg の N H S を、2020.0 mg の 100 mM MES 緩衝液 (pH 5.2) 中に溶解させた。約 1 時間で、H A が完全に水和すると、260 μ L の 4 A A 溶液を、水和した H A に添加した。混合物を、10 回のシリンジからシリンジにわたる混合によって均一化した。277 μ L の E D C および 273 μ L の N H S 溶液を次いで、均一化されたペーストに添加し、シリンジからシリンジにわたる混合によって再び 10 回混合した。混合物を次いでバイアルに移し、室温で 5 時間架橋結合させ、その後、6.4 mL の 10 倍 P B S 緩衝液 (pH 7.4) を添加した。ゲルをローラー上で 3 日間膨潤させ、その後、それを 60 μ m 細孔サイズのメッシュに押し通した。サイズ調整したゲルを、M W C O 20 k D a のセルロースエスチル膜透析管類中に配置し、1 倍 P B S に対して、緩衝液を 1 日 2 回交換しながら 4 日間透析した。ゲルを、1 mL C O C シリンジ中に分注し、5000 R P M で 5 分間遠心分離し、湿り蒸気で滅菌した。ゲルは、23 mg / g の最終 H A 濃度を有した。

20

【 0 1 6 0 】

実施例 2 3

30

実施例 1 9 ~ 2 2 のゲルの流体力学的特性の決定。

振動平行プレートレオメータである、A n t o n P a a r P h y s i c a M C R 301 を使用して、ゲルの流体力学的特性を測定した。25 mm のプレート直径を 1 m m のギャップ高さで使用した。測定を 25 °C の一定の温度で行った。各測定は、2 % の一定の歪みでの 1 ~ 10 Hz の周波数掃引および周波数の対数的な増加、続いて 5 Hz の一定の周波数での 1 ~ 300 % の歪み掃引と共に歪みの対数的な増加からなっていた。貯蔵弾性係数 (G') および粘性係数 (G") は、1 % 歪みでの歪み掃引から得た。

【表 3】

実施例 1 9 ~ 2 2 から得られたゲルの貯蔵弾性係数および粘性係数

試料ID	貯蔵弾性係数(G') Pa	粘性係数(G") Pa
実施例19	84	25
実施例20	83	33.7
実施例21	67	42
実施例22	41	29.5

40

【 0 1 6 1 】

実施例 2 4実施例 1 9 ~ 2 2 のゲルの押出力測定値

ゲルを 30 ゲージ針に通して押し出すために必要とされる力を、I n s t r o n 55

50

6.4 および Bluehill 2 ソフトウェアを使用して測定した。ゲルを 1 mL CO₂ シリンジから、30 G^{1/2} TSK 針に通して押し出した。プランジャーを 100 mm / 分の速度で 11.35 mm にわたって押し、押出力を記録した。

【表 4】

実施例 19 ~ 22 から得られたゲルの押出力

試料ID	押出力(N)
実施例19	25
実施例20	24
実施例21	22
実施例22	19.5

10

【0162】

実施例 25実施例 19 ~ 22 のゲルの生体適合性試験

ゲルの 50 μL ボーラス注入を、Sprague Dawley ラットの背面の皮内に埋め込んだ。埋没物を、1 週目に除去し、ヘマトキシリン・エオシン (H & E) 染色、および単核性炎症細胞に対するマーカーである CD68 染色を用いる組織学によって分析した。CD68 の 3 つの 20 倍画像を、染色の程度に基づいて 0 ~ 4 でスコア化した。これらの値を次いで平均化して、試料スコアを得た。各ゲルから 4 つの試料を分析した。

20

【表 5】

実施例 19 ~ 22 の平均 CD68 スコア

試料ID	スコア
試料1	1.8
試料2	1.6
試料3	2.7
試料4	1.3

30

【0163】

実施例 26実施例 19 ~ 22 のゲル、ISO 10993 - 5 の細胞傷害性試験。

ゲルの体外細胞傷害性試験を、NAMSA によって、Agarose Overlay Method of ISO 10993 - 5 : biological Evaluation of Medical Devices - Part 5 : Tests for In Vitro Cytotoxicity に従って行った。三重のウェルに、フィルターディスク上に配置した 0.1 mL の試験物品、ならびに 0.9% NaCl 溶液、陰性対照として 1 cm 長の高密度ポリエチレン、および陽性対照としてラテックスの 1 × 1 cm² 部分を投薬した。各々を、L929 マウス線維芽細胞の単層を直接覆っているアガロース表面上に配置した。5% CO₂ 中、37 °C で 24 時間インキュベートした後、培養物を、いずれの異常な細胞形態および細胞溶解について巨視的におよび微視的に検査した。試験物品を、試料の近接における溶解域に基づいて 0 ~ 4 でスコア化した。試験物品は、いかなる細胞溶解または傷害性も引き起こす証拠を示さなかったため、試料 1、3、および 4 からの試験物質を 0 としてスコア化した。

40

【0164】

チンダル現象の定量分析

目視観察をさらに支持し、HA 充填剤の比較性能分析を行うために、チンダル現象の定量分析を行うことが必要であるとされた。そのようなものとして、皮膚充填剤に特異的なチンダル現象に対する定量的技法は、文献において何ら存在しない。しかしながら、光散乱および光と皮膚との相互作用についての既存の科学的理験に基づいて、(a) 比色分析

50

、および(b)分光法に基づく2つの別々のアプローチを用いて、皮膚におけるチンドル現象を定量化した。これらの技法に基づいて、3つの別々の定量的パラメータ(下に概説される)を定義して、体内のチンドル現象を測定した。

【0165】

a) チンドル現象可視的スコア：スケールは、0.5の増分で、1~5の範囲を有した。正常な皮膚色調を有し、かつ青色の変色のない注入部位に対して1のスコアを与えた。顕著な青色の変色(典型的にRestylaneまたはJuvederm Ultra Plusに関連する)に対して5の最大スコアを与えた。スコア試験試料に対して盲検化される前に、3人の独立した観察者をスケールに対して訓練した。

【0166】

b) 皮膚色の青色成分 - 「b」：色彩色差計(CM2600D、Konica Minolta, NJ)を使用して、様々な充填剤を注入された皮膚部位から送達される光の青色成分を定量化した。これは、L-a-b色スケールの「b」成分を使用することによって達成した。

【0167】

c) 皮膚から送達される「青色光%」：携帯用分光光度計(CM2600D、Konica Minolta, NJ)を使用して、可視光総領域で皮膚から送達される青色光%を定量化した。これは、400~490nmの可視光スペクトル下面積を積分し、それをスペクトル下総面積(400~700nm)によって正規化することによって達成した。

【0168】

実施例27

ゲルのチンドル評価

ゲルを、リニアスレッディング技法を使用して、2月齢の無毛ラットの大腿部中に、27G^{1/2}TSK針に通して皮内注入した。ゲルを、臨床的な細線手技を模倣するために表層に埋め込んだ。チンドルについての試験を、ゲル埋没の48時間後に行った。チンドル試験を行う前に、ヘモグロビンの欠如に起因するチンドル現象の対比を改善するために、動物を安楽死させた。

【0169】

埋没の2日後の、実施例19および21からのゲルの画が、図12に示される。市販のJuvederm RefineおよびRestylane Touchについての画像もまた、比較のために示される。青みがかった線(チンドル現象)は、市販のゲルJuvederm RefineおよびRestylane Touchの画像において明確に可視的である。実施例19、19A(図示せず)、および21からのゲルは、チンドル現象を何ら示さなかった。

【0170】

0.5の増分での1~5の可視的スコアを使用して、注入部位をスコア化した。1のスコアを有した注入部位は、皮膚変色を何ら示さなかつ一方で、5のスコアを有した注入部位は、重度の青色の皮膚変色を示した。分光分析もまた、比色計(CM2600D、Konica Minolta, NJ)の補助により、注入部位に対して行った。皮膚色の青色成分「b」、および皮膚から送達される青色光の%(400~700nm)を、独立して測定した。図13および14は、可視的チンドルスコアおよび送達される青色光の%を示す。実施例19および21からのゲルは、チンドル現象を何ら示さず、より低い可視的チンドルスコアおよび青色光送達値の%を有した。チンドルスコアおよび送達された青色光値の%は、Juvederm RefineおよびRestylane Touchについて、より高かった。Belotero Softは、いかなるチンドルも示さず、値は、実施例19および21のそれらと同等であった。図13および14を参照されたい。

【0171】

実施例28

組織学によるゲルの体内持続期間評価

10

20

30

40

50

本発明のゲルおよび市販のゲルの 50 μL ボーラス注入を、*Sprague Dawley* ラットの背面の皮内に埋め込んだ。埋没物を、1週目に除去し、ヘマトキシリン・エオシン (H & E) 染色を用いる組織学によって分析した。切片を厳密に注入部位において採取した。2つの切片を、各組織試料から切り取り、H & E 染色切片を、縫合スコープを用いて縫合した。試料を次いでグループ化し、次のようにスコア化した；残っている物質の量に応じて、なし (0%)、低 (25%)、中 (50%)、および高 (100%)。図 15 を参照されたい。

【0172】

実施例 28 A

MRIによるゲルの体内持続期間評価

10

磁気共鳴画像法 (MRI) 研究を使用して、メス *Sprague-Dawley* ラットにおける皮内注入後 40 週間の期間にわたる、本発明のゲルおよび市販のゲルの経時的な体積および表面積変化を評価した。ゲルを、1つの埋没当たり 150 μL の目標体積で注入した。埋没物は、肩の若干後方の 2 つの対側部位、膝から若干吻側の 2 つの対側部位、ならびに頭部および尾の中間点の 2 つの対側部位に位置した。MRI 走査を、7 Tesla 70/30 Bruker Biospec MRI 走査器上で行った。画像を、埋没の当日 (0 週目)、および埋没の 12、24、40 週後に収集した。ゲルの絶対体積対時間のプロットが、下の図 16 に示される。高持続性のゲルは、40 週の埋没時点で高い絶対体積を有する。

【0173】

20

実施例 29

目尻の線の治療において使用される本発明の組成物

40 歳の痩せた女性が、目尻の領域に小じわを呈し、皮膚充填剤治療を要求する。30 ゲージ針を使用して、医師は、本発明に従う 0.6 mL の HA ベースのゲル（実施例 19 に記載されるもの等）を、リニアスレッディング技法を使用して彼女の眼の各々の下の細線中および涙の通り道領域において表層に導入する。ゲルは表層に導入されるが、青色の変色は何ら観察されず、患者は結果に満足する。

【0174】

30

示されるように、本発明の組成物、例えば、実施例 19 および 21 の組成物は、ある特定の HA ベースの市販のゲル、例えば、Juvederm Refine / Surgideerm 18 および Belotero Soft と比べて、低減されたまたは有意でないチンドル現象、および体内で実質的により長い持続期間を有する。例えば、市販の「細線」製剤の Belotero Soft と比べて、本発明の実施例 19 は、少なくともこの市販のゲルと同程度に好ましいチンドルスコア有しただけでなく、実質的により高い体内持続期間を有利に示した。

【0175】

実施例 30

細線の出現の改善のための本発明の注入可能な組成物

ビタミン A、ビタミン B、ビタミン C、ビタミン D、ビタミン E、およびその誘導体等の添加剤を、単独および組み合わせて、多様な実質的に光透過性であり、注入可能な HA ベースのゲルを作製するような様態で、架橋結合されたヒアルロン酸ゲルに結合させる。HA 成分は、本明細書の他の箇所で定義されるように、例えば、少なくとも 90 重量 % であり、実質的に完全に低分子量の HA、または約 100% 低分子量の HA である。これらの添加剤は、任意の好適な手段を使用して HA ヒドロゲルに結合される。結合されたゲルは、少なくとも約 20 mg/g、例えば、約 23、約 24 mg/g、約 25 mg/g、最大約 30 mg/g の HA 濃度を有し、細いゲージ針に通す注入に好適な、注入可能な pH 中性の粘着性組成物を作製するように、サイズ調整され、プロセスされる。ゲルは、少なくとも約 50 Pa、約 60 Pa、約 70 Pa、約 80 Pa、最大約 100 Pa かつ約 100 Pa 以下の G' 値を有する。ゲルは、包装され、オートクレーブ、UV 光、または他の好適な手段を使用して滅菌される。

40

50

【 0 1 7 6 】

ゲルの各々は、患者のしわ、例えば、目尻の領域、鼻唇溝領域、涙の通り道領域、首領域、または皮膚充填から便益を受けるであろう任意の他の顔面領域における、表層注入、例えば、約 1 . 0 mm を超えない深さでの皮膚中への注入に有用である。ゲルの表層導入にもかかわらず、チンダル現象に起因する変色は何ら観察されず、患者は結果に満足する。

【 0 1 7 7 】

最後に、本明細書の態様が様々な実施形態について示されているが、当業者は開示される特定の実施例が本明細書に開示される発明の原理の単に例示であることを容易に理解するであろうことが理解されるべきである。それゆえ、開示される発明は本明細書中に示される特定の方法、プロトコル、および／または試薬等に決して限定されないことが理解されるべきである。よって、本明細書の精神から離れることなく、当業者は多くのおよび様々な改変または変化を作出し得る、あるいは、開示される発明の代替の構成は本明細書中の教示に従ってなされ得る。詳細における変化は付属の請求項中に定義されるような本発明の精神から離れることなく、なされ得る。最後に、本明細書中で使用される用語は特定の実施形態を説明する目的のためのみであり、そして請求項によってのみ定義される本発明の範囲を限定するとは意図されない。さらに、上記説明中に含有される、または付属の図面中に示される全ての事柄は単に例示として、および限定ではないと解釈されるべきであることが意図される。したがって、本発明は示されるおよび説明されるとおりの正確なものに限定されない。

10

【 0 1 7 8 】

本発明を実施するために本発明者に知られる最も良い様式を含む、本発明のある特定の実施形態が本明細書中に示される。当然ながら、これらの示される実施形態についての変形は上記説明を読めば当業者に明らかになるであろう。本発明者は、当業者がそのような変形を使用することを適切であると予想し、そして本発明者は本発明が本明細書中に具体的に示されるものとは異なって実施されることを意図する。したがって、本発明は適用可能な法により許可されるように、本明細書中に付属の請求項中に列挙される発明の全ての改変および均等物を含む。さらに、上記に示される要素の、それらの全ての可能な変形の、どんな組み合わせも、本明細書中に別段の定めなき限り、または別段のように文脈により明らかに矛盾しない限り、本発明に含まれる。

20

【 0 1 7 9 】

本明細書に開示される本発明の代替の要素または実施形態のグループ化は限定として解釈されるべきでない。各グループ構成要素は個々に、またはそのグループの他の構成要素もしくは本明細書中に見られる他の要素とのどんな組み合わせでも言及され、そして請求され得る。1 グループの 1 つ以上の構成要素は利便性および／または特許性の理由のためにグループ中に含められ、またはグループから消去され得る。そのような包含または消去が起こるとき、本明細書は改変されたグループを含有し、したがって付属の請求項中で使用される全てのマーカッシュ形式のグループの記述を実現するとみなされる。

30

【 0 1 8 0 】

別段の定めなき限り、本明細書および請求項で使用される成分の量、分子量等の特性、反応条件等を表す全ての数字は用語「約」により全ての場合において修飾されると理解されるべきである。本明細書で使用されるとき、用語「約」は、そのように指定された項目、パラメータ、または用語が、示された項目、パラメータ、または用語の値の 10 パーセント超および未満の範囲を包含することを意味する。したがって、逆の定めなき限り、本明細書および付属の請求項中に設定される数字パラメータは本発明により得られると考えられる所望の特性により変化し得る近似値である。何はともあれ、かつ請求項の範囲に対する均等物の原則の適用を限定する試みではなく、各数字パラメータは少なくとも報告される有意な桁の数字に照らして、かつ通常の端数処理技術を適用することにより解釈されるべきである。本発明の広い範囲を示す数字範囲およびパラメータは近似値であるにもかかわらず、特定の実施例中に示される数値は可能な限り正確に報告される。どの数値も、

40

50

しかしながら、それらの各試験計測中に見られる標準偏差から必然的に生じるある特定の誤差を本質的に含有する。

【0181】

本発明を示す文脈中で（特に以下の請求項の文脈中で）使用される用語「*a*」、「*a n*」、「*t h e*」、および同様の指示物は、本明細書中に別段の定めなき限りまたは文脈により明らかに矛盾しない限り、単数および複数の両方を含むと解釈されるべきである。本明細書中の値の範囲の列挙はその範囲に入る各別々の値を個々に言及する省略法として働くと単に意図される。本明細書中に別段の定めなき限り、各個々の値は、それが本明細書中に個々に列挙されているかのように本明細書中に組み込まれる。本明細書中に示される全ての方法は、本明細書中に別段の定めなき限り、または文脈により明らかに矛盾しない限り、いかなる好適な順序でも行われ得る。本明細書中に提供されるいかなるおよび全ての実施例または例示的な言語（例えば、「等の」）の使用は単に本発明をよりよく例示することが意図され、そして別段のように請求される本発明の範囲についての限定を提示しない。本明細書中のどの言語も本発明の実施に本質的な非請求要素を示すと解釈されるべきでない。10

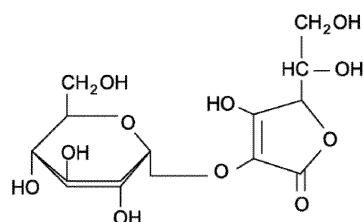
【0182】

本明細書に開示される特定の実施形態は言語からなるまたは本質的に言語からなることを用いて請求項中でさらに限定され得る。請求項中で使用されるとき、出願時の請求項であろうと補正で追加されたものであろうと、接続用語「からなる」は請求項中で特定されない要素、ステップ、または成分を除外する。接続用語「本質的に～からなる」は特定の物質またはステップ、ならびに基本的なおよび新規の特性（単数または複数）に実質的に影響しないものに請求項の範囲を限定する。そのように請求される本発明の実施形態は本明細書中に本質的にまたは明示的に示され、および可能にされる。20

【0183】

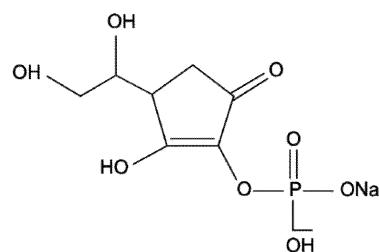
本明細書中に引用されるおよび特定される全ての特許、特許公報、および他の出版物は、例えば、本発明に関連して使用され得るそのような出版物中に示される組成物および方法を示すおよび開示する目的のために、それらの全体が引用により本明細書中に個々におよび明示的に組み込まれる。これらの出版物は本出願の出願日前のそれらの開示についてのみ提供される。この点におけるいすれも、本発明者が先発明によってまたは他の理由のためにそのような開示に先行する権利を与えられないことの承認として解釈されるべきでない。その日付についての全ての記述またはこれらの文書の内容についての表示は本出願人に入手可能な情報に基づき、そしてこれらの文書の日付または内容の正確さについての承認を構成しない。30

【図1】



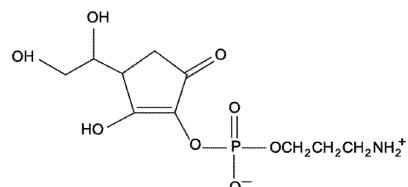
AA2G、(L-アスコルビン酸 2-グルコシド)

【図3】



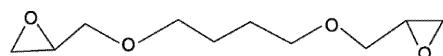
AA2P、(リン酸アスコルビルナトリウム)

【図2】



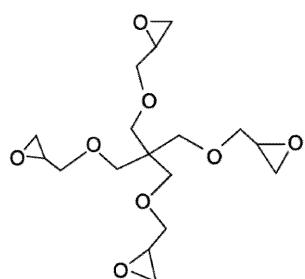
Vitagen、(リン酸アスコルビル 3-アミノプロピル)

【図4】



BDDE、1,4-ブタンジオールジグリシダールエーテル

【図5】

Star-PEG エポキシド、ペンタエリスリトール
グリシダールエーテル

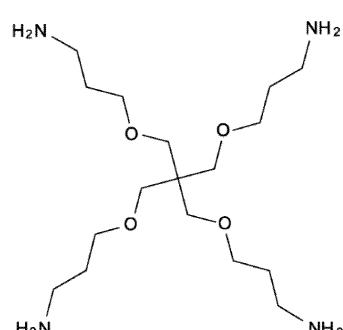
【図7】

試料ID	架橋剤	結合度 (HA-AA2G、モル%)	G' (Pa)
HA-AA2G	BDDE	12	69
		9.78	291
		10.47	377
		12.44	1160
		32.26	132
Starアーム PEG エポキシド	Starアーム PEG エポキシド	31.25	263
		20.48	421
		31.87	1160

HA-AA2G/エポキシド:ゲル合成結果

↓ 軟らかい
硬い
↓ 軟らかい
硬い

【図6】

Star-PEG アミン、ペンタエリスリトール
(3-アミノプロピル)エーテル

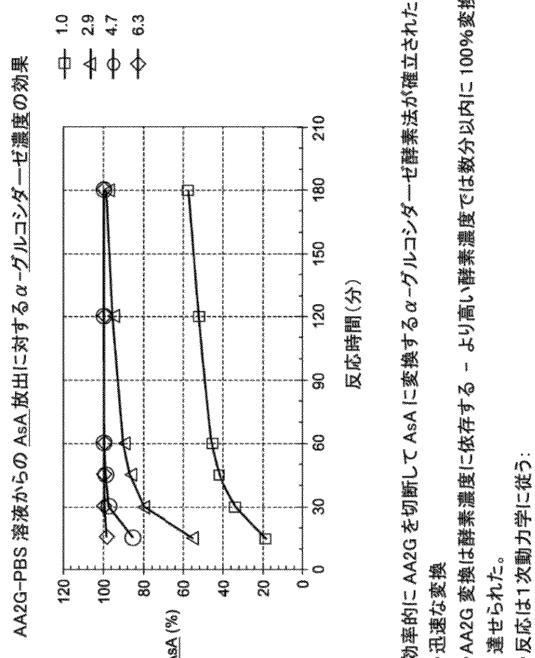
【図8】

結合度 (HA-AA2G、モル%)	ゲル濃度 (mg/mL)	G' (Pa)
8.0	25	42
12.0	17	69
11.6	24	113
Starアーム PEG エポキシド	12.6	237
	9.8	291
	10.5	377
	8.5	700
	13.0	1010
11.9	23	1260

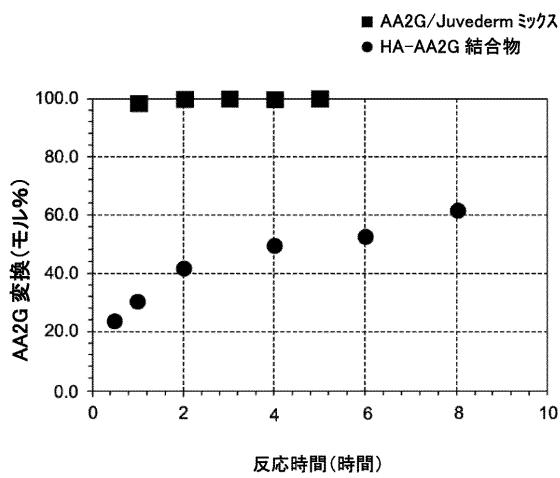
HA-AA2G (BDDE)

↓ 中程度に軟らかい
硬い
↓ 軟らかい
硬い

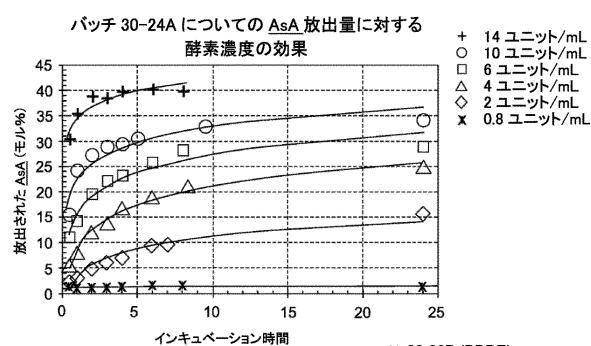
【図 9】



【図 10】



【図 11 A】

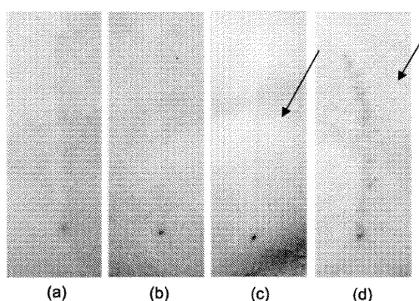


【図 11 B】

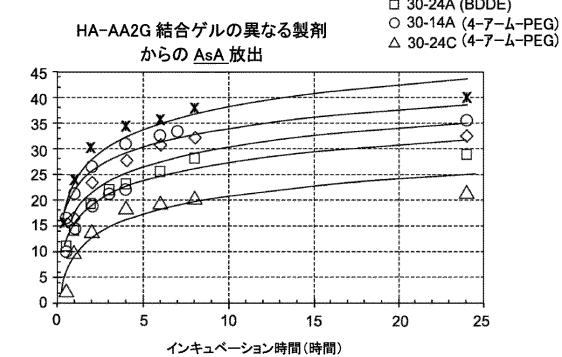
架橋剤	結合度 (AsA モル/AA2G モル) %
BDDE	9.78
BDDE	10.04
BDDE	10.49
BDDE	13.76
Star-PEG	19.30
Star-PEG	31.87

同じ製剤について、放出量は酵素濃度の増加に伴って増加する。

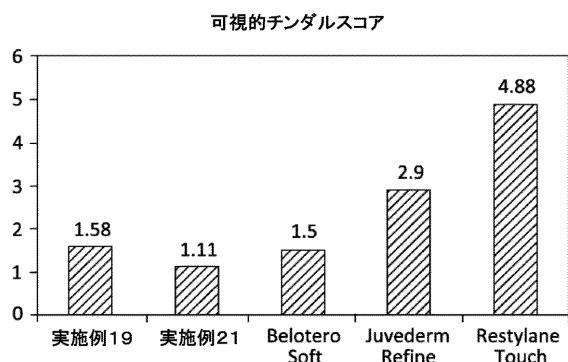
【図 12】



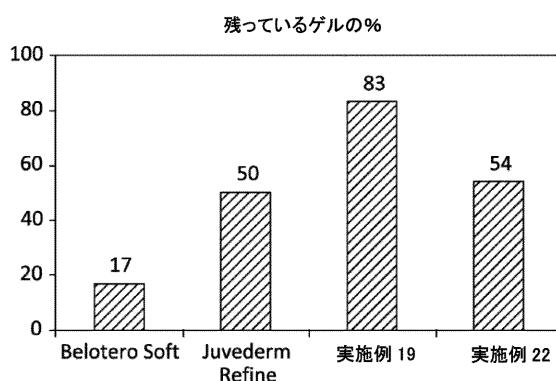
以下からのゲルの画像
(a)実施例19、(b)実施例21、(c)Juvederm Refine、および(d)Restylane Touch



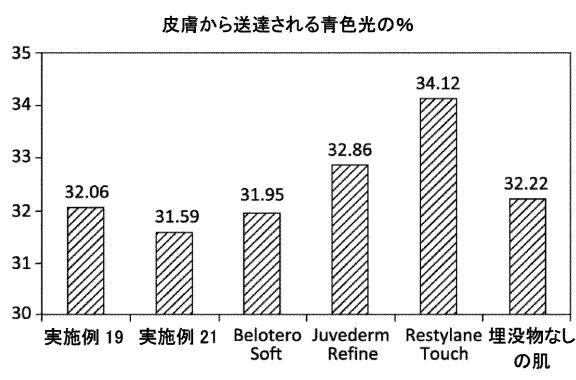
【図13】



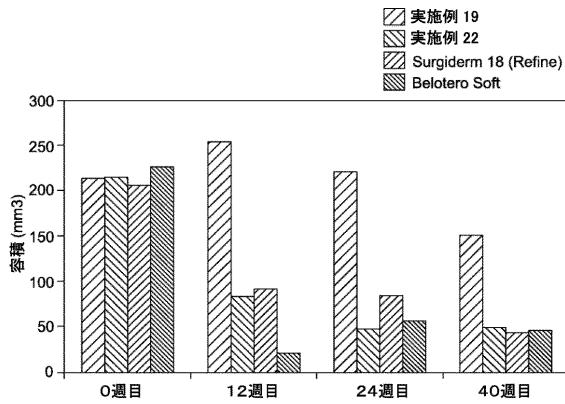
【図15】



【図14】



【図16】



フロントページの続き

(74)代理人 100062144
弁理士 青山 葉
(74)代理人 100106518
弁理士 松谷 道子
(74)代理人 100156144
弁理士 落合 康
(72)発明者 ガブリエル・エヌ・ンジカン
アメリカ合衆国93455カリフォルニア州オーカット、グリーンウィッヂ・コート1131番
(72)発明者 シャオジエ・ユ
アメリカ合衆国92602カリフォルニア州アーバイン、レガシー・ウェイ79番
(72)発明者 フティアン・リウ
アメリカ合衆国94087カリフォルニア州サニーベイル、ラ・コナー・ドライブ530番、ナンバー36
(72)発明者 スミット・パリワル
アメリカ合衆国93117カリフォルニア州ゴリータ、ダベンポート・ロード7220番
(72)発明者 ニコラス・ジェイ・マネシス
アメリカ合衆国93067カリフォルニア州サマーランド、バーリー・ストリート2280番

審査官 横山 敏志

(56)参考文献 米国特許出願公開第2011/0171286(US, A1)
米国特許出願公開第2011/0171311(US, A1)
特表2014-515307(JP, A)
Park D J et al, IN VITRO EVALUATION OF CONJUGATED HYALURONIC ACID WITH ASCORBIC ACID,
Journal of Bone & Joint Surgery, British Volume, 英国, 2010年, Vol. 92-B No. SUPP I 115, URL, http://www.bjprocbs.boneandjoint.org.uk/content/92-B/SUPP_I/115.3

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 61 L 15/00 - 33/18
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C a p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)