



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 294 305**

51 Int. Cl.:
C08B 37/08 (2006.01)
C08J 3/28 (2006.01)
C08J 3/075 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03743875 .1**
86 Fecha de presentación : **12.03.2003**
87 Número de publicación de la solicitud: **1519962**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **06.04.2005**

54 Título: **Derivados éster del ácido hialurónico para la preparación de materiales de hidrogel mediante fotocurado.**

30 Prioridad: **12.03.2002 IT PD02A0064**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.04.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.04.2008

73 Titular/es: **FIDIA FARMACEUTICI S.p.A.**
Via Ponte Della Fabbrica 3/A
35031 Abano Terme, Padova, IT

72 Inventor/es: **Bellini, Davide y**
Zanellato, Anna, Maria

74 Agente: **Álvarez López, Fernando**

ES 2 294 305 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

Derivados éster del ácido hialurónico para la preparación de materiales de hidrogel mediante fotocurado.

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a derivados éster del ácido hialurónico y a materiales de hidrogel compuestos por dichos derivados éster, a su procedimiento de preparación mediante fotocurado y a su uso en los campos biomédico y quirúrgico, así como en el campo médico como sistemas de liberación controlada para fármacos, gracias a sus ventajas mecánicas y a sus propiedades viscoelásticas.

Estado de la técnica

Se conocen varios geles e hidrogeles que se preparan partiendo de polímeros sintéticos, tales como poli(metacrilato de hidroxietilo) (PHEMA) (Holly F.J. y col., Biomed. Res. 1975, 9: 315) o partiendo de derivados semisintéticos de polisacáridos naturales, tales como el derivado del ácido hialurónico reticulado con vinil sulfona (Balazs, E.A. y col., Blood Coagulation and Fibrinolysis, 1991, 2: 173-178), que pueden utilizarse para la prevención de adherencias, en la liberación de fármacos o de proteínas con actividad biológica y en los procedimientos de reparación de tejidos.

Es sabido desde hace algunos años que los hidrogeles se utilizan en cirugía, donde se usa tanto polímeros no reabsorbibles, tales como poliésteres y poliamidas, como polímeros biodegradables, tales como aquellos basados en colágeno, ácido glucólico y ácido láctico (Holland, S.J. y col., J. Controlled Release, 1986, 4: 155-180) y el ácido hialurónico.

También es sabido que pueden obtenerse hidrogeles mediante irradiación ultravioleta tanto a partir de polímeros sintéticos (Amarpreet S., Sawhney y col., Macromolecules, 1993, 26: 581-587) como de derivados semisintéticos, tales como hidrogeles de macrómeros reticulados y polimerizados (patente de EE.UU. N° 5.410.016), y estos geles pueden prepararse a partir de polímeros naturales, tales como ácido hialurónico (patente de EE.UU. N° 6.031.017) o de varios glucosaminoglicanos (patente europea N° 0554898), obteniéndose de este modo productos de hidrogel útiles para prevenir las adherencias extensas y para diversas aplicaciones biomédicas, tales como la liberación de fármacos.

Dichos materiales de hidrogel mencionados anteriormente se obtienen todos mediante reticulación del polímero, tal como ácido hialurónico, con agentes de reticulación fotorreactivos, tales como divinil sulfona u otras moléculas que tienen todas al menos un enlace C = C.

Algunos de estos agentes de reticulación son tóxicos y, obviamente, esto es importante cuando se pretende aplicar el hidrogel para su uso como material biomédico o en usos similares. Además, con este tipo de compuestos de reticulación, cuando se forma la estructura en red del hidrogel, se incorporan a la estructura del hidrogel compuestos de bajo peso molecular procedentes de la irradiación de dichos compuestos de reticulación anteriores, que son difíciles de eliminar. Finalmente, los derivados del ácido hialurónico modificados mediante la reticulación con estos compuestos dan lugar a un gel que no es soluble en agua o en soluciones acuosas.

También es sabido que los geles útiles para la encapsulación de material biológico pueden prepararse partiendo de biopolímeros solubles en agua que contienen al menos dos sitios de insaturación mediante la polimerización con soluciones de iniciadores de formación de radicales, activadas mediante radiación a una longitud de onda de entre 320 y 900 nm (patente de EE.UU. N° 6.258.870).

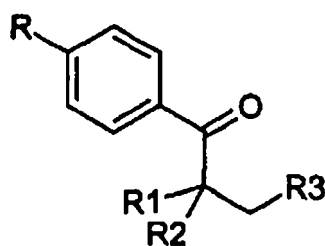
La encapsulación de células, tales como condrocitos, puede usarse para producir un cartílago modificado (Bryant y col., Biomed. Sci. Instrum. 1999, 35: 309-314), mientras que la fotorreticulación de polímeros con fumarato y propileno puede llevar a la formación de matrices tridimensionales para su uso en la reconstrucción de tejido óseo (Fisher J.P. y col., J. Biomater. Sci. Polymer Ed. 2001, 12 (6): 673-687).

Por tanto, se siente profundamente la necesidad de nuevos derivados del ácido hialurónico útiles para la preparación de hidrogeles que no muestren los inconvenientes mencionados anteriormente para los materiales de la técnica anterior.

55 Resumen de la invención

Ahora, el solicitante ha encontrado que cuando se someten a fotocurado a los derivados éster específicos del ácido hialurónico y de derivados del ácido hialurónico con los derivados de propiofenona de fórmula (I), recogidos más adelante en este documento, se produce un material de hidrogel que tiene propiedades mecánicas y viscoelásticas ventajosas.

Por tanto, son objeto de la presente invención los derivados éster del ácido hialurónico o de derivados del ácido hialurónico, en los que parte de los grupos carboxílicos del ácido hialurónico o de los derivados del ácido hialurónico están esterificados con los derivados de propiofenona de fórmula (I)



(I)

en la que R se selecciona entre el grupo constituido por hidroxilo, alquiloxi con una cadena alquilo C1-C20 que lleva uno o más grupos hidroxilo, y heterociclo que lleva uno o más grupos hidroxilo;

y R₁, R₂ y R₃, iguales o diferentes entre sí, se seleccionan entre el grupo constituido por hidrógeno, hidroxilo, alquilo C1-C20 posiblemente sustituido con uno o más grupos hidroxilo y alquiloxi C1-C20, posiblemente sustituidos con uno o más grupos hidroxilo.

El procedimiento de preparación de los presentes derivados éster, así como del material de hidrogel compuesto por los derivados éster, el proceso para preparar el material de hidrogel y los usos en los campos biomédico y quirúrgico, así como en el campo médico, como sistemas de liberación controlada de fármacos, son objetos adicionales de la presente invención.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1A muestra las células viables teñidas ampliadas 10 veces dentro del hidrogel de la invención después de 24 horas en cultivo, preparadas como en el Ejemplo 10.

La Figura 1B muestra las células viables teñidas ampliadas 32 veces dentro del hidrogel de la invención después de 24 horas en cultivo, preparadas como en el Ejemplo 10.

Descripción detallada de la invención

Los derivados éster de la invención pueden prepararse partiendo de moléculas de ácido hialurónico o de derivados del mismo, tal como los recogidos a continuación en este documento, parcialmente esterificados con los derivados de propiofenona de fórmula (I) como iniciadores de formación de radicales, capaces de reticulación sin ninguna insaturación de tipo C = C en la molécula.

El ácido hialurónico que puede utilizarse en la presente invención puede obtenerse a partir de cualquier fuente, por ejemplo, mediante extracción a partir de la cresta de gallo (patente europea N° 0138572) o mediante fermentación (solicitud de patente europea N° 0716688) o mediante procedimientos de biotecnología (patente italiana N° PD94A000042) y puede tener un peso molecular de entre 400 y 3.000.000 Da, preferiblemente de entre 150.000 y 1.000.000 Da.

Los derivados de ácido hialurónico de partida, de posible uso según la invención, no comprenden enlaces C = C y, preferiblemente, se seleccionan entre el grupo constituido por:

1) HYAFF®: ésteres de ácido hialurónico con alcoholes de las series alifática, aralifática, cicloalifática, aromática, cíclicos y heterocíclicos (siempre que dichas moléculas no presenten enlaces C = C), con un porcentaje de esterificación que varía según el tipo y longitud del alcohol utilizado, pero nunca exceda del 75% de modo que el polímero siga siendo soluble en agua, mientras que el porcentaje restante de ácido hialurónico no esterificado está formando una sal con sales de amonio cuaternario para permitir una segunda esterificación con los derivados de propiofenona de fórmula (I), como los descritos en la patente de EE.UU. N° 4.851.521, que hemos incorporado a este documento mediante referencia.

2) HYADD™: amidas del ácido hialurónico con aminas de las series alifática, aralifática, cicloalifática, aromática, cíclicas y heterocíclicas (siempre que dichas moléculas no presenten enlaces C = C), con un porcentaje de amidación que no exceda del 50% de modo que el polímero siga siendo soluble en agua, mientras que el porcentaje restante de ácido hialurónico que no ha experimentado amidación está formando una sal con sales de amonio cuaternario para permitir una segunda esterificación con los derivados de propiofenona de fórmula (I), como los descritos en la solicitud de patente europea N° 1095064, que hemos incorporado a este documento mediante referencia.

ES 2 294 305 T3

3) Sales de amonio cuaternario de derivados O-sulfatados, como los descritos en la patente de EE.UU. N° 6.027.741 que hemos incorporado a este documento mediante referencia, o derivados N-sulfatados del ácido hialurónico, como los descritos en la patente europea N° 0971961 que hemos incorporado a este documento mediante referencia.

5 4) ACP®: ésteres internos de ácido hialurónico con un porcentaje de esterificación que no excede el 20%, de modo que el polímero siga siendo soluble en agua, mientras que el porcentaje de ácido hialurónico restante no esterificado está formando una sal sólo con sales de amonio cuaternario para permitir una segunda esterificación con los derivados de propiofenona de fórmula (I), como las descritas en la patente europea N° 0341745 que hemos incorporado a este documento mediante referencia.

10 Los derivados de propiofenona preferidos de fórmula (I) se seleccionan entre el grupo constituido por 4-(2,3-dihidroxipropoxi)-3-metoxi-propiofenona, 4'-(2-hidroxi-3-morfolinopropoxi)-propiofenona y 2-hidroxi-4-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona (Registro de efecto tóxico de sustancias químicas, 1985-86).

15 Es especialmente preferida la 2-hidroxi-4-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona.

20 Los presentes derivados éster pueden prepararse mediante un procedimiento que comprende la reacción del ácido hialurónico o de los derivados de ácido hialurónico de partida, con el bromuro de los derivados de propiofenona de fórmula (I), es decir, un compuesto de fórmula (I) en el que al menos un grupo hidroxilo del sustituyente R se sustituye por Br, para obtener los derivados éster deseados.

25 Los bromuros de los derivados de propiofenona de fórmula (I) pueden prepararse según procedimientos bien conocidos para cualquier experto en la materia, tal como según la reacción de bromación descrita por Lewis y Boozer en Am. Chem. Soc., 1952, 74, 308.

30 En los presentes derivados éster, el porcentaje de grupos carboxílicos esterificados con los derivados de propiofenona mencionados anteriormente no excede, preferiblemente, del 75%. Los grupos carboxílicos restantes no esterificados con dichos derivados de propiofenona de fórmula (I) pueden estar formando una sal con sales de amonio cuaternario o con metales alcalinos o alcalinotérreos, preferiblemente con sodio.

35 Los presentes derivados éster descritos anteriormente pueden usarse para preparar nuevos materiales de hidrogel basados en ácido hialurónico, que difieren de todos los geles e hidrogeles conocidos basados en ácido hialurónico, o como componente de otros polímeros junto con el ácido hialurónico. Los presentes materiales de hidrogel están compuestos del producto obtenido mediante fotocurado de los presentes derivados éster disueltos, opcionalmente, en agua o en una solución acuosa. El fotocurado puede realizarse a una temperatura que oscile entre 1 y 40°C y, preferiblemente, a temperatura ambiente.

40 Cuando se disuelve en agua o en una solución acuosa, la concentración de los presentes derivados éster puede, por ejemplo, oscilar entre el 0,01 y el 100% (p/p) y, preferiblemente, oscila entre el 0,1 y el 50% (p/p).

45 El fotocurado según la invención, preferiblemente, se lleva a cabo mediante la irradiación con una luz que tiene una longitud de onda que oscila entre 280 y 750 nm y, más preferiblemente, mediante irradiación con rayos ultravioleta y, en especial, con luz ultravioleta que tiene una longitud de onda de 366 nm.

La irradiación según la invención se realiza, preferiblemente, con un tiempo de exposición de entre 2 y 30 minutos y, más preferiblemente, de entre 3 y 15 minutos.

50 Por tanto, los materiales de hidrogel obtenidos muestran propiedades valiosas y, en especial, tienen las siguientes características:

(a) ausencia de insaturación C = C en los derivados éster sin la adición de ningún componente que actúe como catalizador de la reacción de reticulación sin ninguna insaturación en la molécula; hasta ahora se pensaba que la presencia de insaturación C = C en la molécula sometida a reticulación era indispensable para los iniciadores de formación de radicales y éstos se añadían por procedimientos químicos o, simplemente, mediante la mezcla con el polímero para formar un gel con el fin de desencadenar la reacción de polimerización;

(b) esterilidad: es posible obtener un hidrogel estéril ya que el derivado éster se esteriliza por vapor antes del fotocurado;

60 (c) excelentes propiedades viscoelásticas: el presente material de hidrogel se caracteriza por una esterificación parcial con un iniciador de formación de radicales, representado por un derivado de propiofenona y, además, por una formación parcial de una sal con sales de amonio cuaternario o con un metal alcalino o alcalinotérreo. Estos hidrogeles tienen una estructura fisicoquímica que es completamente diferente de la de los geles conocidos, constituida por ésteres internos o externos del ácido hialurónico. De hecho, los geles compuestos por ésteres internos del ácido hialurónico están formados por micropartículas de polímero reticulado unidas mediante enlaces débiles de naturaleza física. Sin embargo, los ésteres externos pueden estar en forma de gel gracias a una simple hidratación, dependiendo del porcentaje de su esterificación y de su concentración en agua. Por el contrario, los presentes materiales de hidrogel muestran una estructura tridimensional, compacta del tipo de pared a pared. Por tanto, se caracterizan por una resis-

ES 2 294 305 T3

tencia mecánica mayor (y, por tanto, pueden utilizarse para mejorar en diversos sectores de la medicina y de la cirugía) y por sus propiedades viscoelásticas que varían dependiendo de cuanto tiempo ha estado expuesto a la irradiación y al tipo de solución acuosa utilizada para obtener el hidrogel. Según la invención, preferiblemente se utiliza agua bidestilada, tampones o solución salina normal, tal como tampón fosfato o una solución de sales, para disolver los presentes derivados ésteres.

Los presentes materiales de hidrogel preparados de este modo, pueden utilizarse para realizar mejoras en los campos de la biomedicina, cirugía, atención sanitaria y farmacéutico, y pueden tener muchas posibles aplicaciones.

En especial, pueden prepararse biomateriales, productos de atención sanitaria y artículos quirúrgicos de los presentes materiales de hidrogel. Los presentes materiales de hidrogel pueden procesarse en forma de láminas, membranas y gasas, y pueden usarse en dermatología para favorecer los procesos de curación de heridas, en cirugía interna para prevenir la adhesión tisular superficial y como polímero de recubrimiento para órganos y vasos sanguíneos.

Además, los presentes hidrogeles pueden ser útiles en sistemas de liberación controlada de uno o más ingredientes activos, tal como proteínas, factores de crecimiento, enzimas, fármacos anticancerígenos y fármacos antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos, para administración tópica, subcutánea, intramuscular o intraarticular. En este último caso, es de especial interés el uso de los presentes materiales de hidrogel en el tratamiento de la osteoartritis como alternativa al tratamiento clásico de la dolencia. Este tratamiento necesita la inyección intraarticular de fármacos antiinflamatorios esteroideos o no esteroideos y/o de otros "fármacos" que tienen principalmente una acción mecánica de viscosuplementación.

También es posible la inyección intraarticular de los presentes derivados éster, con la posterior reticulación mediante una sonda endoscópica de fibra óptica adecuada para el fotocurado *in situ* de los presentes derivados éster e introducida en la rodilla mediante artroscopia, que permite la formación de un material de hidrogel compuesto de los presentes derivados éster directamente dentro de la cavidad sinovial. Pueden añadirse a dichos derivados éster fibroblastos humanos y/o un fármaco, tal como un fármaco antiinflamatorio y/o un inhibidor de la metaloproteasa y/o un inhibidor de la NO sintetasa u otras moléculas con actividad biológica para su uso en el tratamiento de la artrosis y/o de la artritis. Cuando además se añade un fármaco a los presentes derivados éster, el hidrogel que se forma *in situ* tras la irradiación, permite la liberación lenta del fármaco y, simultáneamente, realiza su acción mecánica de viscosuplementación.

Además, el ácido hialurónico en forma de hidrogel, tiene un tiempo de degradación química más largo que un agente de viscosuplementación en forma de fluido. De hecho, los ensayos *in vitro* realizados para establecer los tiempos de degradación del presente hidrogel sin la incorporación de ningún fármaco, mostraron que a 37°C el hidrogel mantiene su estructura tridimensional completamente intacta durante cuatro semanas o más.

La bibliografía científica a nivel mundial recoge experimentos realizados con geles basados en polímeros sintéticos biocompatibles, pero no biodegradables (Malmonge y col., Braz. J. Med. Biol. Res. 2000, 33 (3): 307-312), implantados quirúrgicamente en las articulaciones dañadas como "cartílago artificial".

El material de hidrogel de la invención difiere sustancialmente de los polímeros conocidos y de los tipos de implantes mencionados anteriormente porque, además de estar basados en el ácido hialurónico, conocido por ser un polímero natural altamente biodegradable que sólo libera oligosacáridos no tóxicos, no es necesario una artrotomía para su aplicación, ya que los derivados éster se inyectan en forma de fluido y se reticulan mediante una sonda endoscópica adecuada para el fotocurado de los derivados éster e introducida por artroscopia.

Por tanto, el kit para la implantación del cartílago modificado por cirugía artroscópica es un objeto adicional de la invención, comprendiendo dicho kit un derivado éster de la invención disuelto en agua o en una solución acuosa, un recipiente para dicho derivado éster, preferiblemente un contenedor adecuado para inyección, y una sonda endoscópica de fibra óptica adecuada para el fotocurado *in situ* de dicho derivado éster. Preferiblemente, la sonda es adecuada para la irradiación UV. A los derivados éster comprendidos en el presente kit se les añaden, preferiblemente, fibroblastos humanos y/o un fármaco, como se dijo anteriormente.

Otro objeto de la presente invención se refiere al uso de los presentes materiales de hidrogel en los procedimientos de dispositivos de recubrimiento, tanto en el campo médico como en otros sectores de la industria, ya que pueden dotar a las superficies de los materiales utilizados como soporte con nuevas características biológicas. El recubrimiento biológico constituido por el presente hidrogel también puede contener principios activos, tal como fármacos, proteínas y factores de crecimiento que pueden liberarse a partir de la matriz del polisacárido durante la aplicación.

Los dispositivos que pueden recubrirse se seleccionan, por ejemplo, entre el grupo constituido por catéteres, canales guía, válvulas cardíacas, endoprótesis vasculares, prótesis de tejido blando, prótesis de origen animal, tal como válvulas cardíacas de cerdo, tendones artificiales, lentes de contacto y lentes intraoculares, oxigenadores sanguíneos, órganos artificiales, tales como riñones, corazón, hígado y páncreas, bolsas de sangre, instrumentos quirúrgicos, sistemas de filtración e instrumentos de laboratorio.

El procedimiento de recubrimiento de las superficies de dichos dispositivos puede ser, por ejemplo, la técnica de recubrimiento por plasma, descrita por el solicitante en la solicitud de patente internacional publicación N° WO96/24392.

ES 2 294 305 T3

Otro uso del presente material de hidrogel, es el uso para la liberación controlada y continua de fármacos, factores de crecimiento neuronal, anticuerpos y la asociación de los mismos, para la administración intramedular, para favorecer la regeneración de las terminaciones nerviosas de la médula ósea especialmente después de daños traumáticos.

5 De hecho, es conocido que algunas proteínas, tales como IGF-I, GDNF y otras neurotrofinas pueden proteger a las neuronas motoras de la muerte cuando se aplican directamente sobre el lugar de la lesión en la médula ósea mediante una perfusión continua, pero deben administrarse dentro de un intervalo de tiempo muy limitado (Bilak M.M. y col., Neuroreport 2001, 8, 12 (11): 2531-35). También es sabido que el ácido hialurónico está presente en la médula espinal, distribuido tanto en la materia blanca, donde rodea a la mielina, como en los cuerpos celulares de las
10 neuronas (Bignami A. y col., Exp. Neurol. 1992, 117 (1):90-93).

Un objeto adicional de la presente invención es el uso de los presentes derivados éster para la administración *in situ*, es decir, directamente en el área dañado de la médula ósea de los fármacos mencionados anteriormente mezclados con los derivados éster de la invención, que se inyectan primero y, a continuación, se fotopolimerizan directamente
15 en la médula ósea. Por tanto, es posible obtener una liberación lenta, continua y controlada de principios biológica y farmacológicamente activos, sin introducir ningún producto extraño y/o tóxico en la médula ósea ya que, como ya se ha dicho anteriormente, el ácido hialurónico es un componente natural en la composición de la médula ósea.

Este nuevo tipo de administración intramedular es la primera vez que se describe, puesto que todos los fármacos
20 utilizados en el tratamiento de un traumatismo de médula ósea se administran mediante perfusión continua directamente en el lugar de la lesión.

El material de hidrogel de la presente invención también puede utilizarse para la preparación de un andamiaje para el crecimiento de numerosos tipos de células humanas o animales, tanto diferenciadas (tales como queratinocitos, fibroblastos, osteocitos, adipocitos y condrocitos) como no diferenciadas, tales como células troncales mesenquimáticas de la médula ósea.
25

Los ejemplos incluidos en este documento a continuación muestran como la radiación UV no altera el cariotipo de las células incorporadas en los derivados éster de la invención (que se polimerizan) y como la viabilidad y morfología específica de dichas células permanece inalterada. Por esta razón, es posible preparar *in vitro* y, posteriormente aplicar *in vivo*, diversos tipos de "tejido artificial", especialmente de origen conectivo, constituidos por células incorporadas dentro del hidrogel que contienen los factores necesarios para su crecimiento así como su diferenciación y función celular, tal como, epidermis, dermis, tejido adiposo, tejido óseo y cartílago.
30

El cartílago, descrito en el presente documento como ejemplo, supone un nuevo tipo de cartílago modificado formado por una matriz compuesta por el hidrogel, que contiene células diferenciadas (condrocitos) o células no diferenciadas (células troncales), donde el ácido hialurónico puede estar suplementado con factores de crecimiento y/o factores de diferenciación y/u otros principios farmacológica y/o biológicamente activos, para el crecimiento y diferenciación de las células que contiene.
35

La construcción preparada de este modo (hidrogel + células) puede inyectarse en la articulación y reticularse posteriormente mediante irradiación gracias a una fuente de radiación introducida directamente en la cavidad sinovial mediante artroscopia. Con este nuevo tipo de cartílago modificado es posible, por tanto, reparar el cartílago dañado a través de artroscopia. Es la primera vez que se describe el uso de geles que contienen células que se fotopolimerizan directamente en la articulación. En la bibliografía científica mundial sobre este tema sólo se recogen experimentos realizados con condrocitos incorporados a geles de colágeno y fibrina (Perka y col., Clin. Exp. Rheumatol., 2000, 18 (1): 13-22) o contenidos en matrices de alginato (Paige K.T. y col., Plas. Reconstr. Rug. 1996, 97 (1): 179-180) o creciendo en geles de agarosa, aplicados quirúrgicamente al cartílago dañado, pero en ninguno de estos experimentos el gel que contiene las células se ha polimerizado directamente en el lugar de la aplicación.
40

Otro objetivo de la presente invención se refiere al uso de hidrogeles, opcionalmente con células, como sustitutos viscoelásticos del núcleo pulposo del disco intervertebral tras patologías degenerativas o una hernia discal de la médula ósea. También en este caso es muy interesante e innovador la posibilidad de gelificar el biopolímero mediante fotorreticulación *in situ* por irradiación localizada, utilizando sondas endoscópicas de fibra óptica.
45

Además, en relación con las especiales características viscoelásticas de los hidrogeles obtenidos por fotorreticulación de los presentes derivados éster, pueden utilizarse en el campo de la cirugía oftalmológica como integradores de la viscosidad del humor vítreo.
50

A continuación recogemos algunos ejemplos de la preparación de hidrogeles según la presente invención con objetivos puramente descriptivos, sin limitación de la misma.
55

65

ES 2 294 305 T3

Ejemplo 1

Preparación de un derivado del ácido hialurónico con el 70% de los grupos carboxílicos esterificados con 2-hidroxi-4-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona (HHMP) y el 30% restante de los grupos carboxílicos formando una sal con sodio

Se disuelven 6,21 g de la sal de tetrabutilamonio del ácido hialurónico, con un peso molecular de 180.000 Da (10 meq), en 248 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) a temperatura ambiente. Se añaden a esta solución 2 g de bromuro de HHMP (7 meq) y la solución obtenida de este modo se mantiene a 37°C durante 48 horas. A continuación, se añade una solución de NaCl al 2,5% (p/p) en agua y la mezcla resultante se vierte con agitación sobre 750 ml de acetona. Se forma un precipitado que se filtra a continuación y se lava tres veces con 100 ml de una mezcla de acetona:agua 5:1, después tres veces con 100 ml de acetona y, finalmente, se seca al vacío durante 24 horas a 30°C. De este modo, se obtienen 5,3 g del producto del título. La determinación cuantitativa del contenido de HHMP se realiza mediante HPLC (cromatografía líquida de alta presión) tras la hidrólisis alcalina. El contenido total de grupos éster se mide según el procedimiento de saponificación descrito en las páginas 169 a 172 de “Quantitative organic analysis via functional group”, cuarta edición, John Wiley and Sons Publications.

Ejemplo 2

Preparación de un derivado del ácido hialurónico con el 50% de los grupos carboxílicos esterificados con 2-hidroxi-4-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona (HHMP) y el 50% restante de los grupos carboxílicos formando una sal con sodio

Se disuelven 6,21 g de la sal de tetrabutilamonio del ácido hialurónico, con un peso molecular de 180.000 Da (10 meq) en 248 ml de DMSO a temperatura ambiente. Se añaden a esta solución 1,4 g de bromuro de HHMP (5 meq) y la solución obtenida de este modo se mantiene a 37°C durante 36 horas. A continuación, se añade una solución de NaCl al 2,5% (p/p) en agua y la mezcla resultante se vierte con agitación sobre 750 ml de acetona. Se forma un precipitado que se filtra y lava tres veces con 100 ml de la mezcla acetona:agua 5:1, a continuación tres veces con 100 ml de acetona y, finalmente, se seca al vacío durante 24 horas a 30°C.

De este modo, se obtienen 4,9 g del producto deseado del título. La determinación cuantitativa del contenido de HHMP se realiza mediante HPLC tras la hidrólisis alcalina. El contenido total de grupos éster se mide según el procedimiento de saponificación descrito en las páginas 169 a 172 de “Quantitative organic analysis via functional group”, cuarta edición, John Wiley and Sons Publications.

Ejemplo 3

Preparación de un derivado del ácido hialurónico con el 25% de los grupos carboxílicos esterificados con 2-hidroxi-4-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona (HHMP) y el 75% restante de los grupos carboxílicos formando una sal con sodio

Se disuelven 6,21 g de la sal de tetrabutilamonio del ácido hialurónico que tiene un peso molecular de 180.000 Da (10 meq) en 248 ml de DMSO a temperatura ambiente. A esta solución se le añaden 0,72 g de bromuro de HHMP (2,5 meq) y la solución se mantiene a 37°C durante 24 horas. A continuación, se añade una solución de NaCl al 2,5% (p/p) en agua y la mezcla resultante se vierte sobre 750 ml de acetona en agitación. Se forma un precipitado que se filtra y lava tres veces en 100 ml de la mezcla de acetona:agua 5:1, a continuación, tres veces con 100 ml de acetona y, finalmente, se seca al vacío durante 24 h a 30°C.

De este modo, se obtienen 4,4 g del producto deseado del título. La determinación cuantitativa del contenido de HHMP se realiza mediante HPLC tras la hidrólisis alcalina. El contenido total de grupos éster se mide según el procedimiento de saponificación descrito en las páginas 169 a 172 de “Quantitative organic analysis via functional group”, cuarta edición, John Wiley and Sons Publications.

Ejemplo 4

Preparación de un derivado del ácido hialurónico con el 25% de los grupos carboxílicos esterificados con 2-hidroxi-4-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona (HHMP), el 25% de los grupos carboxílicos esterificados con alcohol bencílico y el 50% restante de los grupos carboxílicos formando una sal con sodio

Se disuelven 6,21 g de la sal de tetrabutilamonio del ácido hialurónico, con un peso molecular de 180.000 Da (10 meq) en 248 ml de DMSO a temperatura ambiente. Se añaden a esta solución 0,72 g de bromuro de HHMP (2,5 meq) y la solución se mantiene a 37°C durante 24 horas. La solución se lleva de nuevo a temperatura ambiente y se suplementa con 0,29 ml de bromuro de bencilo (2,5 meq); a continuación, se calienta de nuevo a 37°C durante otras 36 horas. Después, se añade una solución de NaCl al 2,5% (p/p) y la mezcla resultante se vierte sobre 750 ml de acetona en agitación. Se forma un precipitado que se filtra y lava tres veces con 100 ml de la mezcla de acetona: agua 5:1, a continuación, tres veces con 100 ml de acetona y, finalmente, se seca al vacío durante 24 h a 30°C.

ES 2 294 305 T3

De este modo, se obtienen 4,6 g del producto deseado del título. La determinación cuantitativa del contenido de HHMP y de alcohol bencílico se realiza mediante HPLC tras la hidrólisis alcalina. El contenido total de grupos éster se mide según el procedimiento de saponificación descrito en las páginas 169 a 172 de “Quantitative organic analysis via functional group”, cuarta edición, John Wiley and Sons Publications.

5 Ejemplo 5

10 *Preparación de un derivado del ácido hialurónico con el 15% de los grupos carboxílicos amidados con dodecilamina, el 25% de los grupos carboxílicos esterificados con HHMP y el 60% restante de los grupos carboxílicos formando una sal con sodio*

Se disuelven 6,21 g de la sal de tetrabutilamonio del ácido hialurónico, con un peso molecular de 180.000 Da (10 meq) en 248 ml de DMSO a temperatura ambiente. A esta solución, se añadieron 0,6 ml (9 meq) de ácido metanosulfónico al 99% y, posteriormente, 0,240 g (1,5 meq) de 1,1'-carbonildiimidazol (CDI). Se deja que alcance la temperatura ambiente durante 60 a 90 minutos. Se calienta a 37°C y se añaden 0,465 g (2,5 meq) de dodecilamina. Se deja reaccionar durante 24 horas a 37°C. Se permite que la solución vuelva a temperatura ambiente y se añaden 0,72 g de bromuro de HHMP (2,5 meq). A continuación, la solución se calienta de nuevo a 37°C durante 24 horas. Después, se añade una solución de NaCl al 2,5% (p/p) en agua y la mezcla resultante se vierte con agitación sobre 750 ml de acetona. Se forma un precipitado que se filtra y lava tres veces con 100 ml de la mezcla acetona:agua 5:1, a continuación tres veces con 100 ml de acetona y, finalmente, se seca al vacío durante 24 horas a 30°C. De este modo, se obtienen 4,5 g del producto deseado del título. La determinación cuantitativa del contenido de HHMP y de dodecilamina se realiza mediante HPLC tras la hidrólisis alcalina. El contenido total de grupos éster se mide según el procedimiento de saponificación descrito en las páginas 169 a 172 de “Quantitative organic analysis via functional group”, cuarta edición, John Wiley and Sons Publications.

25 Ejemplo 6

30 *Preparación de un éster del ácido hialurónico con el 50% de los grupos carboxílicos esterificados con HHMP y el 50% restante de los grupos carboxílicos formando una sal con sódico, partiendo de ácido hialurónico sulfatado con un grado de sulfatación de 3 (grado de sulfatación = número de grupos OH sustituidos por grupos SO₃ en una unidad repetitiva de ácido hialurónico)*

Se disuelve 1 g de la sal de tetrabutilamonio del ácido hialurónico en 40 ml de DMSO. A esta solución, se le añaden 5,22 g de un completo SO₃-piridina en 40 ml de DMSO. La solución se enfría a 4°C y se mantiene con agitación durante 1 hora. Posteriormente, se añaden 200 ml de agua y el pH de la solución final se ajusta entre 8,5 y 9,5 con una solución acuosa de hidróxido sódico 1M. Añadiendo a la solución obtenida de este modo 850 ml de etanol absoluto, se obtiene un precipitado que se dializa para eliminar los restos de sales. El producto obtenido de este modo se disuelve en agua y se percola sobre una resina sulfónica en forma de tetrabutilamonio, obteniéndose así la sal inicial. De este modo, se obtienen 12,7 g de ácido hialurónico sulfatado que tiene un grado de sulfatación de 3 en forma de sal de tetrabutilamonio.

Se disuelven 7,9 g de la sal de tetrabutilamonio del ácido hialurónico sulfatado preparado como se describe anteriormente, con un peso molecular de 180.000 Da (5 meq) en 248 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) a temperatura ambiente. A esta solución se añaden 0,7 g de bromuro de HHMP (2,5 meq) y la solución se mantiene a 37°C durante 36 horas. A continuación, se añade una solución de NaCl al 2,5% (p/p) en agua y la mezcla resultante se vierte sobre 750 ml de acetona en agitación. Se forma un precipitado que se filtra y lava tres veces con 100 ml de la mezcla acetona:agua 5:1, a continuación tres veces con 100 ml de acetona y, finalmente, se seca al vacío durante 24 horas a 30°C. De este modo, se obtienen 4 g del producto deseado del título. La determinación cuantitativa del contenido de HHMP se realiza mediante HPLC tras la hidrólisis alcalina. El contenido total de grupos éster se mide según el procedimiento de saponificación descrito en las páginas 169 a 172 de “Quantitative organic analysis via functional group”, cuarta edición, John Wiley and Sons Publications.

Ejemplo 7

55 *Preparación de un derivado del ácido hialurónico con el 25% de los grupos carboxílicos esterificados con 2-hidroxi-4-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona (HHMP), el 10% de los grupos carboxílicos participando en la formación de enlaces éster internos y el 65% restante de los grupos carboxílicos formando una sal con sodio*

Se disuelven 6,21 g de la sal de tetrabutilamonio del ácido hialurónico, con un peso molecular de 180.000 Da (10 meq) en 248 ml de DMSO a temperatura ambiente. A esta solución se añaden 0,72 g de bromuro de HHMP (2,5 meq) y la solución se mantiene a 37°C durante 24 horas. Posteriormente, se añaden 0,404 g de trietilamina (4 meq) y la solución se agita durante 30 minutos. Se añade una solución de 1,022 g (4 meq) de yoduro de 2-cloro-1-metil piridina en 100 ml de DMSO y la mezcla se mantiene a 30°C durante 15 horas. A continuación, se añade una solución de NaCl al 25% (p/p) en agua y la mezcla resultante se vierte sobre 750 ml de acetona en agitación. Se forma un precipitado que se filtra y lava tres veces con 100 ml de la mezcla acetona:agua 5:1, a continuación tres veces con 100 ml de acetona y, finalmente, se seca al vacío durante 24 horas a 30°C.

ES 2 294 305 T3

De este modo, se obtienen 4,6 g del producto deseado del título. La determinación cuantitativa del contenido de HHMP y de alcohol bencílico se realiza mediante HPLC tras la hidrólisis alcalina. El contenido total de grupos éster se mide según el procedimiento de saponificación descrito en las páginas 169 a 172 de "Quantitative organic analysis via functional group", cuarta edición, John Wiley and Sons Publications.

5

Ejemplo 8

Preparación de un hidrogel a partir de un ácido hialurónico con el 70% de los grupos carboxílicos esterificados con 2-hidroxi-4-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona (HHMP) y el 30% restante de los grupos carboxílicos formando una sal con sodio

10

El derivado éster preparado como se describe anteriormente en el Ejemplo 1, se disuelve a temperatura ambiente en agua purificada a una concentración de 25 g/l. La solución obtenida de este modo se expone a radiación ultravioleta con una longitud de onda de 366 nm, usando una lámpara de luz UV, modelo CAMAG (200 V; 0,18 A) durante un tiempo de exposición de 30 minutos.

15

Ejemplo 9

Evaluación del efecto de la radiación ultravioleta (UV) sobre el cariotipo de los fibroblastos humanos irradiados

20

Se irradian tres muestras de fibroblastos humanos (2×10^6) con luz UV durante tres tiempos de exposición diferentes, durante 3, 15 y 30 minutos.

25

Después de la irradiación, cada muestra de células se divide en dos alícuotas y se trata como sigue:

- la primera alícuota se analiza inmediatamente para determinar el cariotipo;

30

- la segunda alícuota se siembra de nuevo en una placa de cultivo que contiene suero fetal de ternera al 10%, denominado a partir de ahora FCS, en medio de Eagle modificado por Dulbecco, denominado a partir de ahora medio de cultivo DMEM.

La segunda muestra de células se deja proliferar durante tres ciclos celulares, al final de los cuales los fibroblastos se preparan para la determinación del cariotipo.

35

Los análisis realizados en las células inmediatamente después de la irradiación y en los fibroblastos que se mantuvieron *in vitro* durante tres ciclos celulares, mostraron que no aparecían alteraciones en los cromosomas durante ninguno de los periodos de exposición a la radiación UV.

Ejemplo 10

40

Cultivo de fibroblastos humanos contenidos en el hidrogel según la invención

Se despegan 2×10^6 fibroblastos de la placa de cultivo, se centrifugan a 1.500 rpm durante 5 minutos y se resuspenden en 3 ml de medio de cultivo DMEM que contenía FCS al 10%. A continuación, se añaden las células con agitación suave a 3 ml de una solución acuosa del derivado del ácido hialurónico preparado como se describe anteriormente en el Ejemplo 3 a una concentración de 100 mg/ml, obteniéndose una solución final de 6 ml que contiene 2×10^6 células. Esta solución se siembra de nuevo en pocillos de cultivo, se irradia inmediatamente con luz UV durante 12 minutos y, a continuación, se coloca en un incubador fijado a 37°C. Después de 24 horas, se comprueba la viabilidad de las células mediante MTT; una sal de tetrazolio expuesta a una reacción de oxidación-reducción sólo por las enzimas mitocondriales de los fibroblastos viables (Dezinot, F. y col., J. Immunol. Methods, 1986, 22 (89): 271-277).

50

Las Figuras 1A y 1B muestra las células viables teñidas (aumentadas 10 y 32 veces, respectivamente) dentro del presente hidrogel después de 24 horas en cultivo.

55

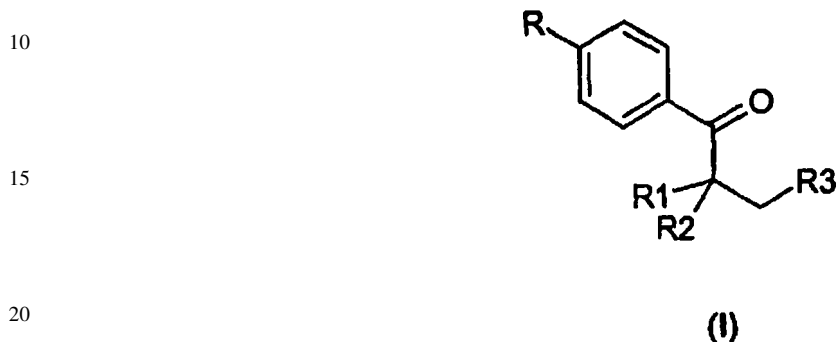
Según se ha descrito la invención, es claro que estos procedimientos pueden modificarse de diversas formas.

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Derivados éster del ácido hialurónico o de derivados del ácido hialurónico en los que parte de los grupos carboxílicos del ácido hialurónico o de los derivados del ácido hialurónico están esterificados con los derivados de propiofenona de fórmula (I)



25 en la que R se selecciona entre el grupo constituido por hidroxilo, alquiloxi con una cadena alquilo C1-C20 que lleva uno o más grupos hidroxilo, y heterociclo que lleva uno o más grupos hidroxilo;

30 y R₁, R₂ y R₃, iguales o diferentes entre sí, se seleccionan entre el grupo constituido por hidrógeno, hidroxilo, alquilo C1-C20 posiblemente sustituido con uno o más grupos hidroxilo y alquiloxi C1-C20, posiblemente sustituidos con uno o más grupos hidroxilo.

35 2. Derivados ésteres según la reivindicación 1, en el que dicho derivado de propiofenona se selecciona entre el grupo constituido por 4-(2,3-dihidroxiopropoxi)-3-metoxi-propiofenona, 4'-(2-hidroxi-3-morfolinopropoxi)-propiofenona y 2-hidroxi-4-(2-hidroxi-etoxi)-2-metilpropiofenona.

40 3. Derivados éster según la reivindicación 2, en el que dicho derivado de propiofenona es 2-hidroxi-4-(2-hidroxi-etoxi)-2-metilpropiofenona.

45 4. Derivado éster según la reivindicación 1, en el que el porcentaje de grupos carboxílicos del ácido hialurónico o de derivados del ácido hialurónico esterificados con dichos derivados de propiofenona de fórmula (I) es inferior al 75%.

50 5. Derivados éster según la reivindicación 1, en el que dichos grupos carboxílicos no esterificados con dichos derivados de propiofenona de fórmula (I) están formando una sal de sodio.

55 6. Derivados éster según la reivindicación 1, en el que dichos derivados de ácido hialurónico no contienen enlaces C = C y se seleccionan entre el grupo constituido por:

- ésteres del ácido hialurónico en los que un porcentaje de los grupos carboxílicos que no exceden del 75% está esterificado con alcoholes de las series alifática, aralifática, cicloalifática, aromática, cíclico y heterocíclico, y el porcentaje restante de grupos carboxílicos no esterificados está formando una sal con sales de amino cuaternario para permitir una segunda esterificación con dichos derivados de propiofenona de fórmula (I);

- amidas del ácido hialurónico en las que un porcentaje de los grupos carboxílicos que no exceden del 50% está esterificado con aminas de las series alifática, aralifática, cicloalifática, aromática, cíclica y heterocíclica, y el porcentaje restante de grupos carboxílicos no esterificados está formando una sal con sales de amino cuaternario para permitir una segunda esterificación con dichos derivados de propiofenona de fórmula (I);

- sales de amonio cuaternario de derivados N-sulfatados u O-sulfatados del ácido hialurónico; y

60 - ésteres internos del ácido hialurónico en los que un porcentaje de los grupos carboxílicos que no excede del 20% está esterificado con grupos alcohol de la misma cadena del ácido hialurónico o de una cadena diferente, y el porcentaje restante de grupos carboxílicos no esterificados está formando una sal con sales de amonio cuaternario para permitir una segunda esterificación con dichos derivados de propiofenona de fórmula (I).

65 7. Derivados éster según la reivindicación 6, en los que dichas sales de amonio cuaternario son sales de tetrabutilamonio.

ES 2 294 305 T3

8. Derivados éster según la reivindicación 6, en los que dicho éster del ácido hialurónico con alcoholes de las series alifática, aralifática, cicloalifática, aromática, cíclica y heterocíclica es un éster del ácido hialurónico con alcohol bencílico.
- 5 9. Derivados éster según la reivindicación 6, en los que dicha amida del ácido hialurónico con aminas de las series alifática, aralifática, cicloalifática, aromática, cíclica y heterocíclica es una amida del ácido hialurónico con dodecilamina.
- 10 10. Derivados éster según la reivindicación 1, en los que dicho ácido hialurónico o derivados de ácido hialurónico tienen un peso molecular que oscila entre 150.000 y 1.000.000 Da.
11. Derivados éster según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, **caracterizados** porque dichos derivados éster con derivados de propiofenona de fórmula (I) son solubles en agua.
- 15 12. Procedimiento para la preparación de los derivados éster como se describe en las reivindicaciones 1 a 11, que comprende la reacción del ácido hialurónico o de los derivados del ácido hialurónico con el bromuro de los derivados de propiofenona de fórmula (I) en el que al menos un grupo hidroxilo del sustituyente R se sustituye por Br, para obtener el derivado éster.
- 20 13. Procedimiento según la reivindicación 12, en el que dicho bromuro de los derivados de propiofenona es el bromuro de la 2-hidroxi-4-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona.
14. Material de hidrogel compuesto por un producto reticulado obtenido mediante fotocurado de un derivado éster, como se describe en las reivindicaciones 1 a 11.
- 25 15. Material de hidrogel según la reivindicación 14, en el que dicho fotocurado se realiza mediante irradiación con luz ultravioleta con una longitud de onda que oscila entre 280 y 750 nm.
16. Material de hidrogel según la reivindicación 14, en el que dicho fotocurado se realiza mediante irradiación con rayos ultravioleta.
- 30 17. Material de hidrogel según la reivindicación 14, en el que dicho fotocurado se realiza mediante irradiación con una luz que tiene una longitud de onda de 366 nm.
- 35 18. Procedimiento para la preparación del material de hidrogel según las reivindicaciones 14 a 17, que comprende el fotocurado de los derivados éster según las reivindicaciones 1 a 11, disueltos opcionalmente en agua o en una solución acuosa.
19. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que dicho fotocurado se realiza mediante irradiación con una luz que tiene una longitud de onda que oscila entre 280 y 750 nm.
- 40 20. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que dicho fotocurado se realiza mediante irradiación con rayos ultravioleta.
- 45 21. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que dicho fotocurado se realiza mediante irradiación con una luz que tiene una longitud de onda de 366 nm.
22. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que dichos derivados éster se disuelven en agua o en una solución acuosa y su concentración oscila entre el 0,01 y el 100% (p/p).
- 50 23. Procedimiento según la reivindicación 22, en el que la concentración de dichos derivados éster oscila entre el 0,1 y el 50% (p/p).
24. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que dicho fotocurado se realiza durante un tiempo de exposición que oscila entre 2 y 30 minutos.
- 55 25. Procedimiento según la reivindicación 24, en el que dicho fotocurado se realiza durante un tiempo de exposición que oscila entre 3 y 15 minutos.
- 60 26. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que dicho fotocurado se realiza a una temperatura que oscila de 1 a 40°C.
27. Procedimiento según la reivindicación 26, en el que dicho fotocurado se realiza a temperatura ambiente.
- 65 28. Materiales biomédicos, productos de asistencia sanitaria y artículos quirúrgicos realizados o recubiertos del material de hidrogel según las reivindicaciones 14 a 17.

ES 2 294 305 T3

- 5 29. Materiales biomédicos, productos de asistencia sanitaria y artículos quirúrgicos según la reivindicación 28 seleccionados entre el grupo constituido por catéteres, canales guía, válvulas cardíacas, endoprótesis vasculares, prótesis de tejido blando, prótesis de origen animal, tal como válvulas cardíacas de cerdo, tendones y órganos artificiales, lentes de contacto y lentes intraoculares, oxigenadores sanguíneos, bolsas de sangre, instrumentos quirúrgicos, sistemas de filtración e instrumentos de laboratorio.
30. Materiales biomédicos, productos de asistencia sanitaria y artículos quirúrgicos según la reivindicación 28, recubiertos de dicho material de hidrogel mediante la técnica de recubrimiento por plasma.
- 10 31. Andamiajes para el crecimiento de células humanas y animales, diferenciadas y/o indiferenciadas que comprenden el material de hidrogel según las reivindicaciones 14 a 17.
32. Composición farmacéutica que comprende un material de hidrogel según las reivindicaciones 14 a 17.
- 15 33. Composición farmacéutica según la reivindicación 32, que además comprende una sustancia farmacológica y/o biológicamente activa o una asociación de la misma.
- 20 34. Composición farmacéutica según la reivindicación 33, en la que las sustancias farmacológica o biológicamente activas se seleccionan entre proteínas, factores de crecimiento, enzimas, anticuerpos y fármacos.
- 35 35. Composición farmacéutica según la reivindicación 32, para administración tópica, subcutánea, intramuscular, intraarticular e intramedular.
- 25 36. Composición farmacéutica según la reivindicación 33, en la que dicho material de hidrogel es el agente para liberación controlada de las sustancias activas.
- 30 37. Uso del material de hidrogel según las reivindicaciones 14 a 17, en los campos biomédico, de asistencia sanitaria, quirúrgico y como sistemas de liberación controlada de fármacos.
38. Uso del material de hidrogel según la reivindicación 37, en la prevención de adherencias quirúrgicas.
39. Uso del material de hidrogel según las reivindicaciones 14 a 17, para la preparación de tejidos conectivos modificados.
- 35 40. Uso del material de hidrogel según las reivindicaciones 14 a 17, para la preparación de cartílago modificado.
41. Uso del material de hidrogel según las reivindicaciones 14 a 17, para la preparación de sustitutos viscoelásticos del núcleo pulposo del disco intervertebral.
- 40 42. Uso del material de hidrogel según las reivindicaciones 14 a 17, para la preparación de integradores de la viscosidad del humor vítreo.
43. Kit para la implantación de un cartílago modificado mediante cirugía artroscópica que comprende un derivado éster según las reivindicaciones 1 a 11 disuelto en agua o en una solución acuosa, un recipiente para dicho derivado éster y una sonda endoscópica con fibra óptica para el fotocurado *in situ* de dicho derivado éster.
- 45 44. Kit según la reivindicación 43, que además comprende fibroblastos humanos y/o un fármaco añadido a dichos derivados éster.
- 50 45. Kit según la reivindicación 43, en el que dicho recipiente es un recipiente adecuado para la inyección de dicho derivado éster.
46. Kit según la reivindicación 43, en el que dicha sonda endoscópica es adecuada para la irradiación *in situ* con rayos UV de dicho derivado éster.
- 55 47. Uso del material de hidrogel según las reivindicaciones 14 a 17, para la preparación de cartílagos modificados, directamente reticulados en el sitio de aplicación mediante artroscopia.
- 60
- 65

EP 1 519 962 B1

Fig. 1A

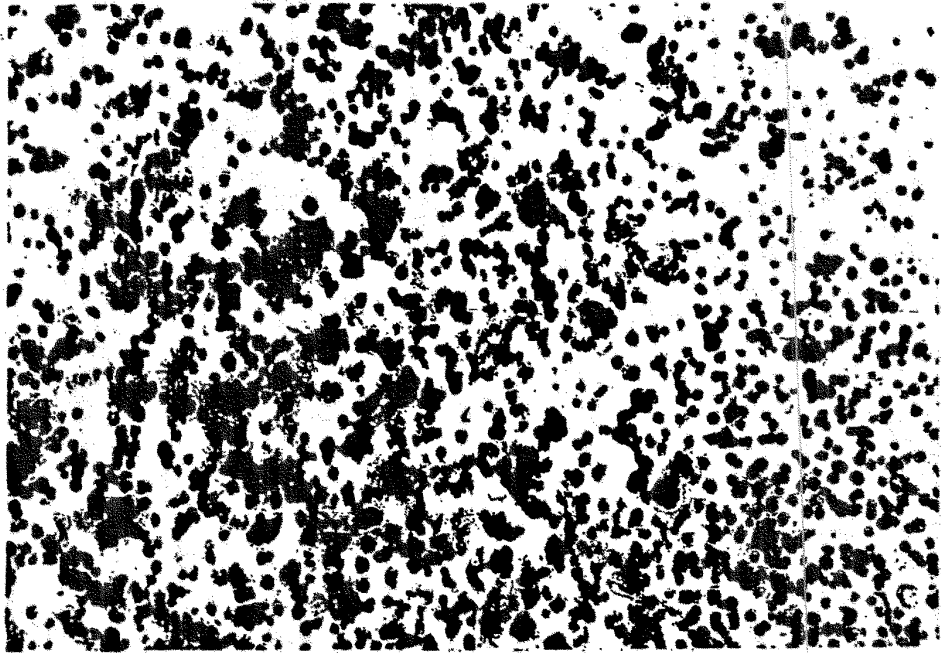


Fig. 1B

