



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2014113663, 13.09.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
13.09.2012

Дата регистрации:
28.07.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

14.09.2011 US 61/534,780;

23.08.2012 US PCT/US2012/052125

(43) Дата публикации заявки: 20.10.2015 Бюл. № 29

(45) Опубликовано: 28.07.2017 Бюл. № 22

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 14.04.2014

(86) Заявка РСТ:

US 2012/055211 (13.09.2012)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2013/040242 (21.03.2013)

Адрес для переписки:

191002, Санкт-Петербург, а/я 5, ООО "Ляпунов
и партнеры"

(72) Автор(ы):

НЦЗИКАН Гэбриел Н. (US),

ЮЙ СяоЦзе (US),

ЛЮ Футянь (US),

ПЭЛИУАЛ Самит (US),

МАНЕЗИС Николас Джей. (US)

(73) Патентообладатель(и):

АЛЛЕРГАН, ИНК. (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: US 2011171286 A1, 14.07.2011. US
2009143331 A1, 04.06.2009. US 20110172180
A1, 14.07.2011. RU 2351367 C2, 10.04.2009.

(54) КОМПОЗИЦИИ КОЖНОГО НАПОЛНИТЕЛЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МЕЛКИХ МОРЩИН

(57) Реферат:

Изобретение относится к области дерматологии и косметологии и представляет собой композицию кожного наполнителя, содержащую производное витамина С, ковалентно конъюгированное с компонентом гиалуроновой кислоты при степени конъюгирования по меньшей мере 3 мол.%, где компонент гиалуроновой кислоты представляет собой гиалуроновую кислоту, сшитую диглицидиловым эфиром 1,4-бутандиола, причем гиалуроновая кислота имеет среднюю молекулярную массу менее 1000000 Да и где

производное витамина С выбрано из группы, состоящей из 2-глюкозида аскорбиновой кислоты, L-аскорбил-3-аминопропилфосфата и аскорбилфосфата натрия, причем указанная композиция является по существу оптически прозрачной и характеризуется значением G', составляющим по меньшей мере 25 Па и не более 200 Па. Изобретение обеспечивает отсутствие посинения, связанного с эффектом Тиндаля, даже при поверхностном введении. 2 н. и 20 з.п. ф-лы, 16 ил., 1 табл., 30 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 8/04 (2006.01)*A61K 8/73* (2006.01)*A61K 8/67* (2006.01)*A61Q 19/08* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2014113663, 13.09.2012**(24) Effective date for property rights:
13.09.2012Registration date:
28.07.2017

Priority:

(30) Convention priority:
14.09.2011 US 61/534,780;
23.08.2012 US PCT/US2012/052125(43) Application published: **20.10.2015** Bull. № **29**(45) Date of publication: **28.07.2017** Bull. № **22**(85) Commencement of national phase: **14.04.2014**(86) PCT application:
US 2012/055211 (13.09.2012)(87) PCT publication:
WO 2013/040242 (21.03.2013)Mail address:
**191002, Sankt-Peterburg, a/ya 5, OOO "Lyapunov i
partnery"**

(72) Inventor(s):

NTSZIKAN Gebriel N. (US),
YUJ SyaoTsze (US),
LYU Futyen (US),
PELIUAL Samit (US),
MANEZIS Nikolas Dzhej. (US)

(73) Proprietor(s):

ALLERGAN, INK. (US)**(54) DERMAL FILLER COMPOSITION FOR SMALL WRINKLES TREATING**

(57) Abstract:

FIELD: cosmetology.

SUBSTANCE: invention represents a dermal filler composition comprising a vitamin C derivative, covalently conjugated to a component of hyaluronic acid with a conjugation degree of at least 3 mol. %, wherein the component of hyaluronic acid is hyaluronic acid crosslinked with the diglycidyl ether of 1,4-butanediol, and hyaluronic acid has an average molecular weight of less than 1000000 Da and wherein the vitamin C derivative is selected from the group

consisting of 2-glucoside, ascorbic acid, L-ascorbyl-3-Aminopropyl phosphate and sodium ascorbyl phosphate, wherein the noted composition is substantially optically transparent and characterised by the G' value constituting at least 25 Pa and not more than 200 Pa.

EFFECT: invention ensures absence of blueing associated with the Tyndall effect, even with superficial administration.

22 cl, 16 dwg, 1 tbl, 30 ex

РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США №61/534780, поданной 14 сентября 2011 г., и является частичным продолжением заявки на патент США №13/593313, поданной 23 августа 2012 г., которая является частичным продолжением заявки на патент США №13/486754, поданной 1 июня 2012 г., которая испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США №61/493309, поданной 3 июня 2011 г., каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством данной конкретной ссылки во всех отношениях.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение в целом относится к композициям кожного наполнителя, и, более конкретно, относится к инъеклируемым композициям кожного наполнителя, которые являются эффективными для лечения мелких морщин на коже.

Старение кожи является прогрессивным явлением, происходит с течением времени и может зависеть от факторов образа жизни, например, употребления алкоголя, табака и воздействия солнца. Старение кожи лица может характеризоваться атрофией, ослаблением натяжения и ожирением. Атрофия соответствует значительному снижению толщины кожной ткани. Ослабление натяжения подкожных тканей приводит к избытку кожи и птозу и к обвисанию щек и век. Ожирение относится к увеличению избыточной массы за счет отека нижней части лица и шеи. Эти изменения обычно связаны с сухостью, потерей упругости и грубой текстурой.

Гиалуроновая кислота (ГК), также известная как гиалуронан, является несulfатированным глюкозаминогликаном, который широко распространен в организме человека в соединительной, эпителиальной и нервной ткани. Гиалуроновая кислота распространена в различных слоях кожи, где она выполняет множество функций, в частности, например, обеспечивает хорошую гидратацию, способствует организации внеклеточного матрикса, действует в качестве наполнителя и участвует в механизмах восстановления тканей. В то же время с возрастом количество гиалуроновой кислоты, коллагена, эластина и других полимеров матрикса, присутствующих в коже, снижается. Например, повторяющееся воздействие ультрафиолета, например, из солнца, заставляет кожные клетки снижать выработку гиалуроновой кислоты, а также увеличивает скорость ее разрушения. Эта потеря материалов приводит к различным заболеваниям кожи, например, морщинам, впадениям, потере влаги и другим нежелательным состояниям, которые вносят вклад во внешние проявления старения.

Для лечения старения кожи успешно используют инъеклируемые кожные наполнители. Указанные наполнители могут замещать утраченные эндогенные полимеры матрикса или усиливать/облегчать функционирование существующих полимеров матрикса при лечении указанных состояний кожи. Популярность кожных наполнителей на основе гиалуроновой кислоты возрастает, поскольку гиалуроновая кислота является веществом, которое в естественных условиях встречается в организме человека. Указанные наполнители в целом хорошо переносятся, являются неперманентными и характеризуются достаточно низким риском при лечении разнообразных кожных состояний.

Эффект Тиндаля является нежелательным явлением, происходящим у некоторых пациентов при введении кожных наполнителей на основе гиалуроновой кислоты (ГК). Эффект Тиндаля характеризуется появлением посиневшего участка кожи в месте инъекции кожного наполнителя, представляющего собой гиалуроновую кислоту, видимую через просвечивающий эпидермис. Клинические отчеты показывают, что

методика введения наполнителя и свойства кожи могут влиять на проявления данного нежелательного явления. Наполнители с высокой жесткостью и эластичностью успешно применяются для коррекции таких областей лица, как носогубные складки, щеки и подбородок, без риска изменения цвета кожи, поскольку материалы вводят в средние и глубокие области дермы. В то же время, при использовании данных наполнителей для коррекции поверхностных мелких морщин, например, слезной борозды, межбровных складок, окологлазничных морщин, морщин в области рта и лба или при ошибочном введении в верхние области дермы слишком близко к поверхности часто наблюдается посинение кожи. Это явление, которое считается обусловленным эффектом Тиндаля, оставляет полупостоянное изменение цвета областей применения и иногда исчезает лишь после введения гиалуронидазы для разрушения материала наполнителя. Таким образом, эффект Тиндаля более распространен среди пациентов, получавших лечение поверхностных мелких морщин. Длительное проявление эффекта Тиндаля, обычно в течение нескольких месяцев, пока гель остается в коже, является причиной сильного беспокойства среди пациентов.

Известны специфические составы кожных гелевых наполнителей на основе ГК для лечения “тонких линейных” морщин в области слезной борозды, лба, окологлазничных, межбровных морщин и т.д. Доступные для приобретения гели на основе ГК для лечения мелких морщин включают Juvéderm Refine ($G' \sim 67$ Па; $G''/G' \sim 0,59$, концентрация ГК 18 мг/мл), Belotero Soft ($G' \sim 28$ Па; $G''/G' \sim 1,1$, концентрация ГК 20 мг/мл), Emervel Touch ($G' \sim 56$ Па; $G''/G' \sim 0,64$, концентрация ГК 20 мг/мл), Stylage S ($G' \sim 192$ Па; $G''/G' \sim 0,20$, концентрация ГК 16 мг/мл), Teosyal First Lines ($G' \sim 59$ Па; $G''/G' \sim 0,53$, концентрация ГК 20 мг/мл), Restylane Touch ($G' \sim 489$ Па; $G''/G' \sim 0,24$, концентрация ГК 18 мг/мл). Хотя указанные гели составлены из расчета низкого модуля упругости, например, путем слабого перекрестного сшивания линейных цепей ГК небольшим количеством перекрестно-сшивающего агента и/или за счет снижения конечной концентрации ГК в указанных гелях, большинство из доступных для приобретения гелей для лечения мелких морщин по-прежнему демонстрируют эффект Тиндаля у некоторых пациентов, особенно при поверхностном введении, например, на глубину менее одного миллиметра.

Для лечения поверхностных морщин можно применять гели на основе коллагена, по-видимому, не вызывающие эффекта Тиндаля. Гели на основе коллагена не пользуются большой популярностью, поскольку они недостаточно долго сохраняются в коже и требуют предварительного индивидуального тестирования. Radiesse[®] (гидроксипатит кальция) является подкожным имплантатом, вводимым путем инъекций, основным компонентом которого является синтетический гидроксипатит кальция, а не гиалуроновая кислота. В отличие от кожных наполнителей на основе гиалуроновой кислоты, гидроксипатит кальция непрозрачен и, таким образом, исключает осложнения эффекта Тиндаля. Однако при расположении слишком близко к поверхности этот наполнитель может быть виден как белое вещество непосредственно под кожей. Кроме того, по сравнению с наполнителями на основе гиалуроновой кислоты, для введения Radiesse[®] требуются более крупные иглы, и данный наполнитель обычно не рекомендуется для применения в области глаз.

Желательно обеспечить инъеклируемый кожный наполнитель на основе гиалуроновой кислоты, который не вызывает посинения, связанного с эффектом Тиндаля, даже при поверхностном введении.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Согласно настоящему изобретению предложены композиции и способы приготовления для получения кожных наполнителей на основе ГК, которые можно

вводить в верхние слои дермы без посинения кожи или, по меньшей мере, без
значительного или заметного посинения. Кроме того, обнаружено, что многие из ранее
описанных гелевых наполнителей согласно изобретению сохраняются *in vivo*
значительно дольше, чем современные доступные для приобретения гели. В некоторых
5 аспектах настоящего изобретения предложены оптически прозрачные кожные
наполнители, подходящие для улучшения внешнего вида кожи, добавляющие объем и
степень наполнения и уменьшающие видимые признаки даже мелких морщин без
эффекта Тиндаля. Настоящие композиции можно вводить в мелкие кожные морщины
даже в областях с тонкой кожей и в поверхностные слои, не вызывая негативного
10 посинения, связанного с применением многих традиционных оптически прозрачных
кожных наполнителей.

Более конкретно, в одном аспекте настоящего изобретения предложены
терапевтические композиции кожных наполнителей длительного действия, в общем
случае содержащие биосовместимые полимеры, например, сшитый компонент на основе
15 гиалуроновой кислоты и добавку, объединенную с указанным компонентом
гиалуроновой кислоты.

В одном из вариантов реализации полимер представляет собой полисахарид,
например, гиалуроновую кислоту. Гиалуроновая кислота включает перекрестно сшитый
компонент и, кроме того, может включать несшитый компонент. Добавка может
20 включать витамин, например, витамин С, например, стабилизированную форму
витамина С, или производное витамина С, например, 2-глюкозид L-аскорбиновой
кислоты (AA2G), аскорбил-3-аминопропилфосфат (Vitagen) или аскорбилфосфат натрия
(AA2P).

В одном из аспектов настоящего изобретения добавка является производным
25 витамина, ковалентно конъюгированным с полимером посредством подходящей
реакции, например, этерификации (образования простых эфиров), амидизации или
эстерификации (образования сложных эфиров).

В широком аспекте согласно настоящему изобретению предложена композиция
кожного наполнителя, содержащая компонент на основе гиалуроновой кислоты,
30 перекрестно сшитой сшивающим компонентом, и добавку, отличную от указанного
сшивающего компонента. Компонент гиалуроновой кислоты можно химически
конъюгировать с добавкой. Кроме того, композиция характеризуется сниженным
эффектом Тиндаля при введении в область дермы пациента по сравнению с по существу
идентичной композицией, не содержащей добавки. Кроме того, композиция может
35 включать другие добавки, например, анестезирующий агент, например, лидокаин. В
одном из вариантов реализации добавка является производным витамина С, например,
AA2G. В еще одном варианте реализации добавка представляет собой Vitagen.

В одном из вариантов реализации компонент гиалуроновой кислоты химически
конъюгирован с добавкой при степени конъюгирования от приблизительно 3 мол.%
40 до приблизительно 40 мол, например, от приблизительно 3 мол.% до приблизительно
10 мол.%.

Композиция может быть по существу оптически прозрачной. Композиции, как
правило, характеризуются значением G' от приблизительно 40 Па до приблизительно
100 Па, например, не более приблизительно 100 Па и, например, не менее
45 приблизительно 40 Па.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложены способы лечения
мелких морщин на коже пациента. В одном варианте реализации способ включает
этапы введения в кожу пациента композиции, содержащей смесь компонента

гиалуроновой кислоты, компонента, сшивающего гиалуроновую кислоту, и добавки, отличной от указанного сшивающего компонента, причем указанная композиция является по существу оптически прозрачной, и указанная композиция характеризуется сниженным эффектом Тиндала по сравнению с по существу идентичной композицией, не содержащей добавки.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложены способы улучшения эстетического вида лица, в общем случае включающие этапы введения в область дермы пациента по существу оптически прозрачной композиции кожного наполнителя, характеризующейся отсутствием или незначительным проявлением эффекта Тиндала. Композиции можно получить посредством этапов обеспечения гиалуроновой кислоты, реакции сшивающего агента с производным витамина С, добавления прореагировавшего сшивающего агента и производного витамина С с гиалуроновой кислотой с образованием композиции сшитой гиалуроновой кислоты, содержащей ковалентно конъюгированный витамин С; и гомогенизации и нейтрализации композиции сшитой гиалуроновой кислоты с получением инъектируемой композиции кожного наполнителя. В некоторых вариантах реализации производное витамина С является AA2G. В некоторых вариантах реализации производное витамина С представляет собой Vitagen.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложены способы уменьшения внешних проявлений мелких морщин в областях тонкой кожи пациента, в общем случае включающие введение пациенту композиции кожного наполнителя на глубину не более 1 мм, причем композиция является по существу оптически прозрачной композицией кожного наполнителя на основе гиалуроновой кислоты, содержащей витамин С или производное витамина С. В некоторых вариантах реализации композицию вводят на глубину не более приблизительно 0,8 мм, не более приблизительно 0,6 мм или не более приблизительно 0,4 мм.

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложена композиция кожного наполнителя, являющаяся по существу оптически прозрачной и в общем случае содержащей компонент на основе гиалуроновой кислоты, перекрестно сшитой сшивающим компонентом, и производное витамина С, ковалентно конъюгированное с компонентом гиалуроновой кислоты. В типичном варианте реализации композиция характеризуется значением G' от приблизительно 40 Па до приблизительно 100 Па. Кроме того, композиция может содержать концентрацию гиалуроновой кислоты от приблизительно 18 мг/г до приблизительно 30 мг/г. Указанные композиции могут быть особенно полезны и эффективны при лечении мелких морщин или поверхностных складок на коже, например, даже очень тонкой кожи, например, кожи толщиной не более приблизительно 1 мм. В некоторых вариантах реализации композиции согласно изобретению сохраняются после введения в кожу в течение по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев или до года.

Указанные и другие аспекты и преимущества настоящего изобретения легче понять и оценить с помощью следующих чертежей и подробного описания.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фигура 1 является графическим представлением структуры 2-глюкозида L-аскорбиновой кислоты (AA2G).

Фигура 2 является графическим представлением структуры аскорбил-3-аминопропилфосфата (Vitagen).

Фигура 3 является графическим представлением структуры аскорбилфосфата натрия (AA2P).

Фигура 4 является графическим представлением структуры диглицидилового эфира 1,4-бутандиола (BDDE).

Фигура 5 является графическим представлением структуры глицидилового эфира пентаэритрита (эпоксида Star-ПЭГ).

5 Фигура 6 является графическим представлением структуры 3-аминопропилового эфира пентаэритрита (амин Star-ПЭГ).

Фигура 7 является таблицей, в которой показаны степень конъюгации и значения G' различных композиций кожных наполнителей в соответствии с изобретением.

10 Фигура 8 является таблицей, в которой показаны степень конъюгации, концентрации ГК и значения G' композиций кожных наполнителей ТК-AA2G(BDDE) в соответствии с изобретением.

Фигура 9 является графическим представлением наблюдаемого процента высвобождения АК из раствора AA2G в PBS, в зависимости от времени в минутах, для четырех различных концентраций α -глюкозидазы.

15 Фигура 10 является графическим представлением профиля высвобождения свободной АК из конъюгированных кожных наполнителей в соответствии с изобретением (с замедленным высвобождением) (преобразования AA2G в мол.% в зависимости от времени реакции).

20 На Фигурах 11A и 11B показаны дополнительные данные по высвобождению для различных кожных наполнителей в соответствии с изобретением.

На Фигуре 12 показаны изображения кожи после поверхностных инъекций гелей кожных наполнителей на основе ГК согласно изобретению и некоторых доступных для приобретения гелей, предназначенных для применения для мелких морщин.

25 На Фигуре 13 показаны визуальные оценки эффекта Тиндаля для гелей кожных наполнителей на основе ГК согласно изобретению и некоторых доступных для приобретения гелей, предназначенных для применения для мелких морщин.

На Фигуре 14 показан % синего света, диффузно отраженного от кожи после введения гелей кожных наполнителей на основе ГК согласно изобретению и некоторых доступных для приобретения гелей, предназначенных для применения для мелких морщин.

30 На Фигуре 15 показан общий % оставшегося геля через 1 неделю после имплантации гелей кожных наполнителей на основе ГК согласно изобретению и некоторых доступных для приобретения гелей, предназначенных для применения для мелких морщин.

35 На Фигуре 16 показан общий % оставшегося геля на неделе 0, неделе 12, неделе 24 и неделе 40 после имплантации гелей кожных наполнителей на основе ГК согласно изобретению и некоторых доступных для приобретения гелей, предназначенных для применения для мелких морщин.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В одном аспекте согласно настоящему изобретению предложены композиции кожного наполнителя, в общем случае содержащие биосовместимый полимер, например, полисахарид, такой как перекрестно сшитая гиалуроновая кислота, и производное витамина С, ковалентно конъюгированное с полимером. Композиция обеспечивает замедленное высвобождение витамина С для неоколлагенеза кожи, а также другие лечебные или косметические полезные свойства. При введении в кожу, например интрадермально, композиция реагирует с эндогенными ферментами организма, и с течением времени генерирует *in vivo* биоактивный витамин С посредством ферментативного расщепления. Поскольку витамин С высвобождается из композиции в течение нескольких недель или месяцев, его полезные свойства проявляются в организме.

Полимер может быть выбран из группы полимеров, состоящей из белков, пептидов и полипептидов, полилизина, коллагенов, проколлагенов, эластинов и ламининов.

Полимер можно выбрать из группы полимеров, состоящей из синтетических полимеров с гидроксильными, аминными и карбоксильными функциональными группами: поливинилового спирта, полиэтиленгликоля, поливиниламина, полиаллиламина, дезацетилированного полиакриламида, полиакриловой кислоты и полиметакриловой кислоты. Полимер можно выбрать из группы полимеров, состоящей из дендритных или разветвленных полимеров, в том числе дендритных полиолов и дендритных полиаминов. Полимер можно выбрать из группы полимеров, состоящей из твердой поверхности с гидроксильными, аминными и карбоксильными функциональными группами.

Полимер может являться полисахаридом, например, выбранным из группы полисахаридов, включая крахмал и его производные; декстран и его производные, целлюлозу и ее производные; хитин, хитозан и альгинат и его производные.

В типичном варианте реализации изобретения полимер является гликозаминогликаном. Гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, кроме того, может включать два или более различных гликозаминогликановых полимера. В настоящем документе термин “гликозаминогликан” является синонимом терминов “ГАГ” и “мукополисахарид” и относится к длинным неразветвленным полисахаридам, состоящим из повторяющихся дисахаридных единиц. Повторяющаяся единица состоит из гексозы (шестиуглеродного углевода) или гексурановой кислоты, связанной с гексозамином (шестиуглеродным азотсодержащим углеводом) и их фармацевтически приемлемых солей. Члены семейства ГАГ различаются по типу гексозамина, гексозы или гексурановой кислоты, которую они содержат (например, глюкуроновую кислоту, идуроновую кислоту, галактозу, галактозамин, глюкозамин), а также могут различаться по геометрии гликозидной связи. Любой глюкозаминогликановый полимер можно применять в гидрогелевых композициях, описанных в настоящем документе, при условии, что данный гликозаминогликановый полимер улучшает состояние кожи. Неограничивающие примеры гликозаминогликанов включают хондроитинсульфат, дерматансульфат, кератансульфат, гиалуронан. Неограничивающие примеры приемлемых солей гликозаминогликанов включают соли натрия, соли калия, соли магния, соли кальция и их комбинации. Гликозаминогликаны и их полимеры, используемые в гидрогелевых композициях и способах, описываемых в настоящем документе, описаны, например, в публикациях Piron and Tholin, Polysaccharide Crosslinking, Hydrogel Preparation, Resulting Polysaccharides(s) and Hydrogel(s), uses Thereof, патентная публикация США 2003/0148995; Lebreton, Cross-Linking of Low and High Molecular Weight Polysaccharides Preparation of Injectable Monophase Hydrogels; Lebreton, Viscoelastic Solutions Containing Sodium Hyaluronate and Hydroxypropyl Methyl Cellulose, Preparation and Uses, патентная публикация США 2008/0089918; Lebreton, Hyaluronic Acid-Based Gels Including Lidocaine, патентная публикация США 2010/0028438 и Polysaccharides and Hydrogels thus Obtained, патентная публикация США 2006/0194758; и Di Napoli, Composition and Method for Intradermal Soft Tissue Augmentation, международная патентная публикация WO 2004/073759, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. ГАГ, используемые в гидрогелевых композициях и способах, описанных в настоящем документе, доступны для приобретения, например, кожные наполнители на основе гиалуронана JUVEDERM[®], JUVEDERM[®] 30, JUVEDERM[®] Ultra, JUVEDERM[®] Ultra Plus, JUVEDERM[®] Ultra XC и JUVEDERM[®] Ultra Plus XC (Allergan Inc, Ирвин, штат Калифорния, США). В таблице 1 перечислены

типичные ГАГ.

Таблица 1. Примеры ГАГ				
Название	Гексуроновая кислота/гексоза	Гексозамин	Геометрия гликозидной связи	Уникальные особенности
Хондроитин-сульфат	GlcUA или GlcUA(2S)	GalNac или GalNac(4S) или GalNac(6S) или GalNac(4S, 6S)	-4GlcUA β 1-3GalNac β 1-	Наиболее распространенный ГАГ
Дерматан-сульфат	GlcUA или IdoUA или IdoUA(2S)	GalNac или GalNac(4S) или GalNac(6S) или GalNac(4S, 6S)	-4IdoUA β 1-3GalNac β 1-	Отличается от хондроитинсульфата присутствием идуроновой кислоты, хотя некоторые гексуроновые кислоты могут являться глюкуроновой кислотой.
Кератан-сульфат	Gal или Gal(6S)	GlcNac или GlcNac(6S)	-3Gal(6S) β 1-4GlcNac(6S) β 1-	Кератансульфат II типа может быть фукозилирован.
Гепарин	GlcUA или IdoUA(2S)	GlcNac или GlcNS или GlcNac(6S) или GlcNS(6S)	-4IdoUA(2S) α 1-4GlcNS(6S) α 1-	Самая высокая плотность отрицательного заряда среди известных биологических молекул
Гепаран-сульфат	GlcUA или IdoUA или IdoUA(2S)	GlcNac или GlcNS или GlcNac(6S) или GlcNS(6S)	-4GlcUA β 1-4GlcNac α 1-	Аналогичен по структуре гепарину, однако гепарансульфатные дисахаридные единицы организованы в различные сульфатированные и несulfатированные домены.

Гиалуронан	GlcUA	GlcNAc	-4GlcUA β 1- 3GlcNAc β 1-	Единственный абсолютно не сульфатированный ГАГ
GlcUA = β-D-глюкуроновая кислота GlcUA(2S) = 2-O-сульфо-β-D-глюкуроновая кислота IdoUA = α-L-идуроновая кислота IdoUA(2S) = 2-O-сульфо-α-L-идуроновая кислота Gal = β-D-галактоза Gal(6S) = 6-O-сульфо-β-D-галактоза GalNAc = β-D-N-ацетилгалактозамин GalNAc(4S) = β-D-N-ацетилгалактозамин-4-O-сульфат GalNAc(6S) = β-D-N-ацетилгалактозамин-6-O-сульфат GalNAc(4S,6S) = β-D-N-ацетилгалактозамин-4-O, 6-O-сульфат GlcNAc = α-D-N-ацетилглюкозамин GlcNS = α-D-N-сульфоглюкозамин GalNAc(6S) = α-D-N-сульфоглюкозамин-6-O-сульфат				

Аспекты настоящего изобретения, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, содержащую хондроитинсульфатный полимер. В настоящем документе термин “хондроитинсульфатный полимер” относится к неразветвленному, сульфатированному полимеру переменной длины, содержащему дисахариды из двух чередующихся моносахаридов - D-глюкуроновой кислоты (GlcA) и N-ацетил-D-галактозамина (GalNAc), и его фармацевтически приемлемым солям.

Хондроитинсульфатный полимер может также содержать остатки D-глюкуроновой кислоты, эпимеризованные в L-идуроновую кислоту (IdoA); в этом случае полученный дисахарид называется дерматансульфатом. Хондроитинсульфатный полимер может содержать цепь более чем из 100 отдельных углеводов, каждый из которых может быть сульфатирован в различных положениях и количествах. Хондроитинсульфатные полимеры являются важным структурным компонентом хряща и в значительной мере обеспечивают его устойчивость к сжатию. Любой хондроитинсульфатный полимер можно применять в композициях, описанных в настоящем документе, при условии, что данный хондроитинсульфатный полимер улучшает состояние кожи. Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых солей хондроитинсульфата включают хондроитинсульфат натрия, хондроитинсульфат калия, хондроитинсульфат магния, хондроитинсульфат кальция и их комбинации.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, содержащую кератансульфатный полимер. В настоящем документе термин “кератансульфатный полимер” относится к полимеру переменной длины, содержащему дисахаридные единицы, содержащие β -D-галактозу и N-ацетил-D-галактозамин (GalNAc), и его фармацевтически приемлемым солям. Дисахариды в пределах повторяющейся области кератансульфата могут быть фукозилированы, а концевой группой цепей является N-ацетилнейраминная кислота. Любой кератансульфатный полимер можно применять в композициях, описанных в настоящем документе, при условии, что данный кератансульфатный полимер улучшает состояние кожи. Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых солей кератансульфата включают кератансульфат натрия, кератансульфат калия, кератансульфат магния, кератансульфат кальция и их комбинации.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию,

содержащую гиалуроновый полимер. В настоящем документе термин “полимер гиалуроновой кислоты” является синонимом терминов “полимер ГК”, “полимер гиалуроновой кислоты” и “гиалуронатный полимер”, относящихся к анионному, несulfатированному гликозаминогликановому полимеру, содержащему дисахаридные единицы, содержащие мономеры D-глюкуроновой кислоты и D-N-ацетилглюкозамина, связанные друг с другом через чередующиеся β -1,4- и β -1,3-гликозидные связи, и его фармацевтически приемлемым солям. Гиалуроновые полимеры можно выделить в очищенном виде из источников животного и иного происхождения. Размер полимеров гиалуронана может находиться в диапазоне от приблизительно 5000 до приблизительно 20000000 Да. Любой гиалуроновый полимер можно применять в композициях, описанных в настоящем документе, при условии, что данный гиалуронан улучшает состояние кожи. Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых солей гиалуронана включают гиалуронан натрия, гиалуронан калия, гиалуронан магния, гиалуронан кальция и их комбинации.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, содержащую перекрестно сшитый гликозаминогликановый полимер. В настоящем описании термин “перекрестно сшитый” относится к межмолекулярным связям, соединяющим отдельные молекулы полимера или цепи мономера в более стабильную структуру, например, гель. Таким образом, перекрестно сшитый

гликозаминогликановый полимер содержит по меньшей мере одну межмолекулярную связь, соединяющую по меньшей мере одну отдельную молекулу полимера с другой.

Перекрестное сшивание гликозаминогликановых полимеров обычно приводит к образованию гидрогеля. Такие гидрогели обладают высокой вязкостью и требуют значительных усилий для выдавливания через тонкую иглу. Гликозаминогликановые

полимеры, описанные в настоящем документе, могут быть сшиты с помощью диальдегидных и дисульфидных сшивающих агентов, включая, без ограничения, многофункциональные сшивающие агенты на основе ПЭГ, дивинилсульфоны, диглицидиловые простые эфиры и бис-эпоксиды, бискарбодиимид. Неограничивающие примеры агентов, сшивающих гиалуронан, включают многофункциональные

сшивающие агенты на основе ПЭГ, например, тетраглицидиловый эфир пентаэритрита (PETGE), дивинилсульфон (DVS), диглицидиловый эфир 1,4-бутандиола (BDDE), 1,2-бис(2,3-эпоксипропокс)этилен (EGDGE), 1,2,7,8-диэпоксиктан (DEO), (фениленбис-(этил)-карбодиимид и 1,6 гексаметиленбис(этилкарбодиимид), дигидразид адипиновой кислоты (ADH), бис(сульфосукцинимидил)суберат (BS), гексаметилендиамин (ГМДА),

1-(2,3-эпоксипропил)-2,3-эпоксиклогексан, лизин, метиловый эфир лизина или их комбинации. Другие полезные сшивающие агенты описаны в заявке Stroumpoulis and Tezel, Tunably Crosslinked Polysaccharide Compositions, патентная заявка США №12/910466, поданной 22 октября 2010 года, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. Неограничивающие примеры способов перекрестного сшивания

гликозаминогликановых полимеров описаны, например, Гликозаминогликановые полимеры, используемые в композициях и способах, описываемых в настоящем документе, описаны, например, в публикациях Piron and Tholin, Polysaccharide Crosslinking, Hydrogel Preparation, Resulting Polysaccharides(s) and Hydrogel(s), uses Thereof, патентная публикация США 2003/0148995; Lebreton, Cross-Linking of Low and High Molecular Weight

Polysaccharides Preparation of Injectable Monophase Hydrogels; Lebreton, Viscoelastic Solutions Containing Sodium Hyaluronate and Hydroxypropyl Methyl Cellulose, Preparation and Uses, патентная публикация США 2008/0089918; Lebreton, Hyaluronic Acid-Based Gels Including Lidocaine, патентная публикация США 2010/0028438 и Polysaccharides and Hydrogels thus

Obtained, патентная публикация США 2006/0194758; и Di Napoli, Composition and Method for Intradermal Soft Tissue Augmentation, международная патентная публикация WO 2004/073759, каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, содержащую перекрестно сшитый гликозаминогликановый полимер с определенной степенью сшивки. В настоящем документе термин “степень сшивки” относится к процентному содержанию мономерных единиц гликозаминогликанового полимера, например, дисахаридных мономерных звеньев гиалуронана, которые связаны со сшивающим агентом. Степень сшивки выражается как массово-процентное отношение сшивающего агента к гликозаминогликану. Степень сшивки в некоторых предпочтительных вариантах реализации согласно изобретению составляет от приблизительно 3% до приблизительно 12%, например, от приблизительно 5% до приблизительно 10%.

В одном варианте реализации гидрогелевая композиция содержит сшитый гликозаминогликановый полимер, например, сшитую гиалуроновую кислоту, причем сшитый гликозаминогликановый полимер присутствует в композиции в концентрации, например, от приблизительно 18 мг/г до приблизительно 30 мг/г. Кроме того, композиция может содержать общую концентрацию гиалуроновой кислоты от приблизительно 24 мг/г до приблизительно 25 мг/г.

Аспекты настоящего описания обеспечивают, в частности, гидрогелевую композицию, содержащую гиалуроновые полимеры с низкой молекулярной массой, гиалуроновые полимеры с высокой молекулярной массой или гиалуроновые полимеры как с низкой, так и высокой молекулярной массой. В настоящем документе термин “высокая молекулярная масса” по отношению к “гиалуронану” относится к полимерам гиалуронана со средней молекулярной массой 1000000 Да или более. Неограничивающие примеры высокомолекулярных гиалуроновых полимеров включают гиалуроновые полимеры с молекулярной массой приблизительно 1500000 Да, приблизительно 2000000 Да, приблизительно 2500000 Да, приблизительно 3000000 Да, приблизительно 3500000 Да, приблизительно 4000000 Да, приблизительно 4500000 Да и приблизительно 5000000 Да. В настоящем документе термин “низкая молекулярная масса” по отношению к “гиалуронану” относится к полимерам гиалуронана со средней молекулярной массой менее 1000000 Да. Неограничивающие примеры низкомолекулярных гиалуроновых полимеров включают гиалуроновые полимеры с молекулярной массой приблизительно 200000 Да, приблизительно 300000 Да, приблизительно 400000 Да, приблизительно 500000 Да, приблизительно 600000 Да, приблизительно 700000 Да, приблизительно 800000 Да и приблизительно 900000 Да.

В одном варианте реализации композиция содержит сшитые гиалуроновые полимеры с низкой молекулярной массой. В аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитые гиалуроновые полимеры со средней молекулярной массой, например, приблизительно 100000 Да, приблизительно 200000 Да, приблизительно 300000 Да, приблизительно 400000 Да, приблизительно 500000 Да, приблизительно 600000 Да, приблизительно 700000 Да, приблизительно 800000 Да и приблизительно 900000 Да. В других аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитые гиалуроновые полимеры со средней молекулярной массой, например, не более 100000 Да, не более 200000 Да, не более 300000 Да, не более 400000 Да, не более 500000 Да, не более 600000 Да, не более 700000 Да, не более 800000 Да, не более 900000 Да или не более 950000 Да. В других аспектах указанного варианта

осуществления композиция содержит сшитые гиалуроновые полимеры со средней молекулярной массой, например, от приблизительно 100000 Да до приблизительно 500000 Да, от приблизительно 200000 Да до приблизительно 500000 Да, от приблизительно 300000 Да до приблизительно 500000 Да, от приблизительно 400000 Да до приблизительно 500000 Да, от приблизительно 500000 Да до приблизительно 950000 Да, от приблизительно 600000 Да до приблизительно 950000 Да, от приблизительно 700000 Да до приблизительно 950000 Да, от приблизительно 800000 Да до приблизительно 950000 Да, от приблизительно 300000 Да до приблизительно 600000 Да, от приблизительно 300000 Да до приблизительно 700000 Да, от приблизительно 300000 Да до приблизительно 800000 Да, или от приблизительно 400000 Да до приблизительно 700000 Да.

В еще одном варианте реализации композиция содержит сшитые гиалуроновые полимеры с высокой молекулярной массой. В аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитые гиалуроновые полимеры со средней молекулярной массой, например, приблизительно 1000000 Да, приблизительно 1500000 Да, приблизительно 2000000 Да, приблизительно 2500000 Да, приблизительно 3000000 Да, приблизительно 3500000 Да, приблизительно 4000000 Да, приблизительно 4500000 Да и приблизительно 5000000 Да. В других аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитые гиалуроновые полимеры со средней молекулярной массой, например, по меньшей мере 1000000 Да, по меньшей мере 1500000 Да, по меньшей мере 2000000 Да, по меньшей мере 2500000 Да, по меньшей мере 3000000 Да, по меньшей мере 3500000 Да, по меньшей мере 4000000 Да, по меньшей мере 4500000 Да или по меньшей мере 5000000 Да. В других аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитые гиалуроновые полимеры со средней молекулярной массой, например, от приблизительно 1000000 Да до приблизительно 5000000 Да, от приблизительно 1500000 Да до приблизительно 5000000 Да, от приблизительно 2000000 Да до приблизительно 5000000 Да, от приблизительно 2500000 Да до приблизительно 5000000 Да, от приблизительно 2000000 Да до приблизительно 3000000 Да, от приблизительно 2500000 Да до приблизительно 3000000 Да.

В еще одном варианте реализации композиция содержит сшитые гиалуроновые полимеры, где сшитые гиалуроновые полимеры содержат комбинацию как гиалуроновых полимеров с высокой молекулярной массой, так и гиалуроновых полимеров с низкой молекулярной массой в различных соотношениях. В аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитые гиалуроновые полимеры, где сшитые гиалуроновые полимеры включают комбинацию как гиалуроновых полимеров с высокой молекулярной массой, так и гиалуроновых полимеров с низкой молекулярной массой в соотношении приблизительно 20:1, приблизительно 15:1, приблизительно 10:1, приблизительно 5:1, приблизительно 1:1, приблизительно 1:5, приблизительно 1:10, приблизительно 1:15 или приблизительно 1:20.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, содержащую несшитый гликозаминогликановый полимер. В настоящем описании термин “несшитый” относится к отсутствию межмолекулярных связей, соединяющих отдельные молекулы гликозаминогликанового полимера или цепи мономера. Таким образом, несшитый гликозаминогликановый полимер не связан с любым другим гликозаминогликановым полимером посредством межмолекулярной связи. В аспектах указанного варианта реализации композиция содержит несшитый хондроитинсульфатный полимер, несшитый дерматансульфатный полимер, несшитый

кератансульфатный полимер, несшитый гепарановый полимер, несшитый гепарансульфатный полимер или несшитый гиалуроновый полимер. Несшитые гликозаминогликановые полимеры растворимы в воде и в общем случае остаются жидкими в естественных условиях. Таким образом, несшитые гликозаминогликановые полимеры часто смешивают с гидрогелевыми композициями на основе гликозаминогликанового полимера в качестве смазки для облегчения выдавливания композиции через тонкую иглу.

В одном варианте реализации композиция содержит несшитый гликозаминогликановый полимер, где несшитый гликозаминогликановый полимер присутствует в концентрации, например, приблизительно 2 мг/г, приблизительно 3 мг/г, приблизительно 4 мг/г, приблизительно 5 мг/г, приблизительно 6 мг/г, приблизительно 7 мг/г, приблизительно 8 мг/г, приблизительно 9 мг/г, приблизительно 10 мг/г, приблизительно 11 мг/г, приблизительно 12 мг/г, приблизительно 13 мг/г, приблизительно 13,5 мг/г, приблизительно 14 мг/г, приблизительно 15 мг/г, приблизительно 16 мг/г, приблизительно 17 мг/г, приблизительно 18 мг/г, приблизительно 19 мг/г, приблизительно 20 мг/г, приблизительно 40 мг/г или приблизительно 60 мг/г. В других аспектах указанного варианта реализации композиция содержит несшитые гиалуроновые полимеры, где несшитые гиалуроновые полимеры, присутствуют в концентрации, например, по меньшей мере 1 мг/г, по меньшей мере 2 мг/г, по меньшей мере 3 мг/г, по меньшей мере 4 мг/г, по меньшей мере 5 мг/г, по меньшей мере 10 мг/г, по меньшей мере 15 мг/г, по меньшей мере 20 мг/г, по меньшей мере 25 мг/г, по меньшей мере 35 мг/г или по меньшей мере 40 мг/г. В других аспектах указанного варианта реализации композиция содержит несшитые гиалуроновые полимеры, где несшитые гиалуроновые полимеры, присутствуют в концентрации, например, не более 1 мг/г, не более 2 мг/г, не более 3 мг/г, не более 4 мг/г, не более 5 мг/г, не более 10 мг/г, не более 15 мг/г, не более 20 мг/г или не более 25 мг/г. В других аспектах указанного варианта реализации композиция содержит несшитый гликозаминогликан, где несшитый гликозаминогликан присутствует в концентрации, например, от приблизительно 1 мг/г до приблизительно 60 мг/г, от приблизительно 10 мг/г до приблизительно 40 мг/г, от приблизительно 7,5 мг/г до приблизительно 19,5 мг/г, от приблизительно 8,5 мг/г до приблизительно 18,5 мг/г, about 9,5 мг/г до приблизительно 17,5 мг/г, от приблизительно 10,5 мг/г до приблизительно 16,5 мг/г, от приблизительно 11,5 мг/г до приблизительно 15,5 мг/г, или от приблизительно 12,5 мг/г до приблизительно 14,5 мг/г.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, по существу не содержащую перекрестно сшитого гликозаминогликанового полимера. В настоящем документе термин “по существу не содержащий” (или “состоящий по существу из”) относится к композиции, где можно обнаружить лишь следовые количества сшитых полимеров матрикса. В одном из аспектов указанного варианта осуществления композиция содержит хондроитинсульфат, по существу не содержащий сшитого хондроитинсульфатного полимера, дерматансульфат, по существу не содержащий сшитого дерматансульфатного полимера, кератансульфат, по существу не содержащий сшитого кератансульфатного полимера, гепаран, по существу не содержащий сшитого гепаранового полимера, гепарансульфат, по существу не содержащий сшитого гепарансульфатного полимера, или гиалуронансульфат, по существу не содержащий сшитого гиалуронанового полимера.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, абсолютно не содержащую перекрестно сшитого гликозаминогликанового полимера.

Как используется в настоящем документе, термин “абсолютно не содержащий” относится к композиции, в которой, в пределах диапазона чувствительности используемого прибора или способа, невозможно обнаружить сшитые гликозаминогликановые полимеры, или их присутствие невозможно подтвердить. В одном из аспектов указанного варианта осуществления композиция содержит хондроитинсульфат, абсолютно не содержащий сшитого хондроитинсульфатного полимера, дерматансульфат, абсолютно не содержащий сшитого дерматансульфатного полимера, кератансульфат, абсолютно не содержащий сшитого кератансульфатного полимера, гепаран, абсолютно не содержащий сшитого гепаранового полимера, гепарансульфат, абсолютно не содержащий сшитого гепарансульфатного полимера, или гиалуронансульфат, абсолютно не содержащий сшитого гиалуронанового полимера.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, содержащую соотношение перекрестно сшитого гликозаминогликанового полимера и несшитого гликозаминогликанового полимера. Это отношение сшитого и несшитого гликозаминогликановых полимеров также известно как соотношение гель:жидкость. Любое соотношение гель:жидкость можно применять при получении композиций, описанных в настоящем документе, при условии, что такое соотношение позволяет получить композицию, описанную в настоящем документе, которая улучшает состояние кожи, как описано в настоящем документе. Неограничивающие примеры соотношения гель:жидкость в композициях по настоящему изобретению включают 100:0, 98:2, 90:10, 75:25, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 25:75, 10:90, 2:98 и 0:100.

В аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитый гликозаминогликановый полимер и несшитый гликозаминогликановый полимер, где соотношение гель:жидкость составляет, например, приблизительно 0:100, приблизительно 1:99, приблизительно 2:98, приблизительно 3:97, приблизительно 4:96, приблизительно 5:95, приблизительно 6:94, приблизительно 7:93, приблизительно 8:92, приблизительно 9:91 или приблизительно 10:90. В других аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитый гликозаминогликановый полимер и несшитый гликозаминогликановый полимер, где соотношение гель: жидкость составляет, например, не более 1:99, не более 2:98, не более 3:97, не более 4:96, не более 5:95, не более 6:94, не более 7:93, не более 8:92, не более 9:91 или не более 10:90. В других аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитый гликозаминогликановый полимер и несшитый гликозаминогликановый полимер, где соотношение гель:жидкость составляет, например, от приблизительно 0:100 до приблизительно 3:97, от приблизительно 0:100 до приблизительно 5:95 или от приблизительно 0:100 до приблизительно 10:90.

В других аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитый гликозаминогликановый полимер и несшитый гликозаминогликановый полимер, где соотношение гель:жидкость составляет, например, приблизительно 15:85, приблизительно 20:80, приблизительно 25:75, приблизительно 30:70, приблизительно 35:65, приблизительно 40:60, приблизительно 45:55, приблизительно 50:50, приблизительно 55:45, приблизительно 60:40, приблизительно 65:35, приблизительно 70:30, приблизительно 75:25, приблизительно 80:20, приблизительно 85:15, приблизительно 90:10, приблизительно 95:5, приблизительно 98:2 или приблизительно 100:0. В других аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитый гликозаминогликановый полимер и несшитый гликозаминогликановый полимер, где соотношение гель:жидкость составляет, например, не более 15:85, не более 20:80, не более 25:75, не более 30:70, не более 35:65, не более 40:60, не более 45:55, не более 50:

50, не более 55:45, не более 60:40, не более 65:35, не более 70:30, не более 75:25, не более 80:20, не более 85:15, не более 90:10, не более 95:5, не более 98:2 или не более 100:0. В других аспектах указанного варианта реализации композиция содержит сшитый гликозаминогликановый полимер и несшитый гликозаминогликановый полимер, где
 5 соотношение гель:жидкость составляет, например, от приблизительно 10:90 до приблизительно 70:30, от приблизительно 15:85 до приблизительно 70:30, от приблизительно 10:90 до приблизительно 55:45, от приблизительно 80:20 до приблизительно 95:5, от приблизительно 90:10 до приблизительно 100:0, от приблизительно 75:25 до приблизительно 100:0, или от приблизительно 60:40 до
 10 приблизительно 100:0.

Гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, может дополнительно содержать другой агент или комбинацию агентов, которые обеспечивают положительный эффект при введении композиции индивидууму. Такие полезные агенты включают, без ограничения, антиоксидант, противозудный агент, антицеллюлитный
 15 агент, противорубцовый агент, противовоспалительный агент, анестетик, противораздражающий агент, сосудосуживающий агент, сосудорасширяющий агент, антигеморрагический агент, например, кровоостанавливающий агент или антифибринолитический агент, отслаивающий агент, натягивающий агент, противоугревой агент, пигментирующий агент, антипигментирующий агент или
 20 увлажняющий агент.

Для целей настоящего описания, если не указано иное, “%” в составе определяют как процентное отношение массы к массе (т.е. масс/масс).

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, которая может необязательно содержать анестетик.

25 Анестетик предпочтительно является местным анестетиком, т.е. анестетиком, вызывающим обратимое местное обезболивание и потерю болевой чувствительности, например, аминокамидным местным анестетиком и аминокэфирным местным анестетиком. Количество анестетика, включенное в композицию, описанную в настоящем документе, представляет собой количество, эффективное для смягчения боли, испытываемой
 30 индивидуумом при введении композиции. В связи с этим количество анестетика, включенное в композицию, описанную в настоящем документе, составляет от приблизительно 0,1% до приблизительно 5% от общей массы композиции.

Неограничивающие примеры анестетиков включают лидокаин, амбукаин, амоланон, амилокаин, беноксинат, бензокаин, бетоксикаин, бифенамин, бупивакаин, бутакаин,
 35 бутамбен, бутаниликаин, бутетамин, бутоксикаин, картикаин, хлорпрокаин, кокаэтилен, кокаин, циклометикаин, дибукаин, диметизокин, диметокаин, диперодон, дициклонин, эгонидин, эгонин, этилхлорид, этидокаин, бета-эукаин, эупроцин, феналкомин, формокаин, гексилкаин, гидрокситетракаин, изобутил-р-аминобензоат, лейцинокаина мезилат, левоксадрол, лидокаин, мепивакаин, меприлкаин, метабутоксикаин,
 40 метилхлорид, миртекаин, непаин, октакаин, ортокаин, оксетазаин, парэтоксикаин, фенакаин, фенол, пиперокаин, пиридокаин, полидоканол, прамоксин, прилокаин, прокаин, пропанокаин, пропаракаин, пропирокаин, пропоксикаин, псевдококаин, пиррокаин, ропивакаин, салициловый спирт, тетракаин, толикаин, тримекаин, золамин, их комбинации и их соли. Неограничивающие примеры аминокэфирных местных
 45 анестетиков включают прокаин, хлорпрокаин, кокаин, циклометикаин, диметокаин (ларокаин), пропоксикаин, прокаин (новокаин), пропаракаин, тетракаин (аметокаин). Неограничивающие примеры аминокамидных местных анестетиков включают артикаин, бупивакаин, цинхокаин (дибукаин), этидокаин, левобупивакаин, лидокаин (лигнокаин),

мепивакаин, пиперокаин, прилокаин, ропивакаин и тримекаин. Композиция, описанная в настоящем документе, может содержать один анестетик или множество анестетиков. Неограничивающий пример комбинированного местного анестетика представляет собой лидокаин/прилокаин (EMLA).

5 Так, в одном из вариантов реализации композиция, описанная в настоящем документе, содержит анестетик и его соли. В аспектах данного варианта реализации композиция, описанная в настоящем документе, содержит аминокамидный местный анестетик и его соли или аминокэфирный местный анестетик и его соли. В других аспектах данного варианта реализации композиция, описанная в настоящем документе, содержит прокаин, 10 хлорпрокаин, кокаин, циклометикаин, диметокаин, пропоксикаин, прокаин, пропаракаин, тетракаин или их соли или любую их комбинацию. В других аспектах данного варианта реализации композиция, описанная в настоящем документе, содержит артикаин, бупивакаин, цинхокаин, этидокаин, левобупивакаин, лидокаин, мепивакаин, пиперокаин, прилокаин, ропивакаин, тримекаин, или их соли или любую их комбинацию. 15 В других аспектах данного варианта реализации композиция, описанная в настоящем документе, содержит комбинацию лидокаин/прилокаин.

В других аспектах данного варианта реализации композиция, описанная в настоящем документе, содержит анестетик в количестве, например, приблизительно 0,1%, приблизительно 0,2%, приблизительно 0,3%, приблизительно 0,4%, приблизительно 20 0,5%, приблизительно 0,6%, приблизительно 0,7%, приблизительно 0,8%, приблизительно 0,9%, приблизительно 1,0%, приблизительно 2,0%, приблизительно 3,0%, приблизительно 4,0%, приблизительно 5,0%, приблизительно 6,0%, приблизительно 7,0%, приблизительно 8,0%, приблизительно 9,0% или приблизительно 10% от общей массы композиции. В других аспектах данного варианта реализации композиция, описанная в настоящем документе, содержит анестетик в количестве, например, по меньшей мере 0,1%, по 25 меньшей мере 0,2%, по меньшей мере 0,3%, по меньшей мере 0,4%, по меньшей мере 0,5%, по меньшей мере 0,6%, по меньшей мере 0,7%, по меньшей мере 0,8%, по меньшей мере 0,9%, по меньшей мере 1,0%, по меньшей мере 2,0%, по меньшей мере 3,0%, по меньшей мере 4,0%, по меньшей мере 5,0%, по меньшей мере 6,0%, по меньшей мере 30 7,0%, по меньшей мере 8,0%, по меньшей мере 9,0% или по меньшей мере 10% от общей массы композиции. В других аспектах данного варианта реализации композиция, описанная в настоящем документе, содержит анестетик в количестве, например, не более 0,1%, не более 0,2%, не более 0,3%, не более 0,4%, не более 0,5%, не более 0,6%, не более 0,7%, не более 0,8%, не более 0,9%, не более 1,0%, не более 2,0%, не более 3,0%, 35 не более 4,0%, не более 5,0%, не более 6,0%, не более 7,0%, не более 8,0%, не более 9,0% или не более 10% от общей массы композиции. В дополнительных аспектах композиция, описанная в настоящем документе, содержит анестетик в количестве, например, от приблизительно 0,1% до приблизительно 0,5%, от приблизительно 0,1% до 40 приблизительно 1,0%, от приблизительно 0,1% до приблизительно 2,0%, от приблизительно 0,1% до приблизительно 3,0%, от приблизительно 0,1% до приблизительно 4,0%, от приблизительно 0,1% до приблизительно 5,0%, от приблизительно 0,2% до приблизительно 0,9%, от приблизительно 0,2% до приблизительно 1,0%, от приблизительно 0,2% до приблизительно 2,0%, от приблизительно 0,5% до приблизительно 1,0%, или от приблизительно 0,5% до 45 приблизительно 2,0% от общей массы композиции.

В еще одном варианте реализации композиция, описанная в настоящем документе, не содержит анестетика.

В одном аспекте настоящего изобретения предложен инъеклируемый кожный

наполнитель, который содержит полимер, например, гликозаминогликановый полимер, например, полимер гиалуроновой кислоты, например, гиалуроновой кислоты, по меньшей мере часть которой перекрестно сшита, и добавку или полезный агент в комбинации с полимером.

- 5 Указанный полезный агент, находящийся в комбинации с полимером, может содержать витамин, например, витамин С. Неограничивающие примеры подходящих форм витамина С включают аскорбиновую кислоту и натриевые, калийные и кальциевые соли аскорбиновой кислоты, жирорастворимые сложные эфиры аскорбиновой кислоты и длинноцепочечных жирных кислот (аскорбилпальмитат или аскорбилстеарат),
- 10 аскорбилфосфат магния (MAP), аскорбилфосфат натрия (SAP) и 2-глюкозид аскорбиновой кислоты (AA2G™), аскорбилфосфат натрия (AA2P), аскорбилсульфат динатрия и аскорбил-3-аминопропилфосфат (Vitagen).

- В особенно предпочтительном варианте реализации указанный полезный агент ковалентно конъюгирован с полимером. Например, полезный агент может представлять собой витамин С или производное витамина С, которое ковалентно конъюгировано с полимером и присутствует в композициях в количестве от приблизительно 0,04% до
- 15 приблизительно 5,0% от общей массы композиции, например от приблизительно 0,1% до приблизительно 4,0% от общей массы композиции, например от приблизительно 0,2% до приблизительно 2,0% от общей массы композиции. В одном варианте реализации
- 20 количество витамина С, включенное в композицию, описанную в настоящем документе, составляет от приблизительно 0,3% до приблизительно 1,2% от общей массы композиции.

- Предпочтительно, витамин С, ковалентно конъюгированный с полимером, включает по меньшей мере одно из следующих соединений: аскорбиновую кислоту, L-аскорбиновую кислоту, 2-сульфат L-аскорбиновой кислоты (AA-2S) и 2-фосфат L-
- 25 аскорбиновой кислоты (AA-2P), 2-О-глюкозид аскорбиновой кислоты (AA-2G), 6-О-ацил-2-О-альфа-О-глюкопиранозил-L-аскорбиновую кислоту (6-Ацил-AA-2G), (аскорбил-3-аминопропилфосфат, аскорбилпальмитат), их производные и комбинации. Композиция, описанная в настоящем документе, может содержать один агент на основе витамина С или множество агентов на основе витамина С.

- 30 В еще одном варианте реализации настоящего изобретения представлен кожный наполнитель, в котором гиалуроновая кислота перекрестно сшита с BDDE. В указанном варианте реализации степень конъюгирования может составлять от приблизительно 3 мол.% и приблизительно 10 мол.% до приблизительно 15 мол.% и до приблизительно 40 мол.%.

- 35 В некоторых вариантах реализации кожные наполнители обладают долговременной биодоступностью. Например, представлены кожные наполнители, которые при введении в кожу человека эффективно высвобождают аскорбиновую кислоту или другие витамины в организм человека в течение по меньшей мере приблизительно 1 месяца и до приблизительно 20 месяцев или более.

- 40 Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, характеризующуюся динамическим модулем, модулем упругости, модулем вязкости и/или тангенсом δ . Композиции, описанные в данном документе, являются вязкоупругими в том отношении, что композиция содержит эластичный компонент (подобный твердому телу, например, сшитые
- 45 гликозаминогликановые полимеры) и вязкий компонент (подобный жидкости, например, несшитые гликозаминогликановые полимеры или несущую фазу) при приложении силы (напряжения, деформации). Реологическим показателем, описывающим это свойство, является динамический модуль (G^*), который определяет общее сопротивление

композиции деформациям. Динамический модуль является комплексным числом с действительной и мнимой частями: $G^* = G' + iG''$. Абсолютное значение G^* представляет собой $Abs(G^*) = \sqrt{G'^2 + G''^2}$. Динамический модуль можно определить как сумму модуля упругости (G') и модуля вязкости (G''). Falcone, et al., Temporary Polysaccharide Dermal Fillers: A Model for Persistence Based on Physical Properties, *Dermatol Surg.* 35(8): 1238-1243 (2009); Tezel, supra, 2008; Kablik, supra, 2009; Beasley, supra, 2009; каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

Модуль упругости или модуль эластичности относится к способности материала гидрогеля сопротивляться деформации, или, наоборот, тенденции объекта обратимо деформироваться при приложении силы к нему. Модуль упругости характеризует жесткость композиции и также известен как динамический модуль упругости, поскольку он описывает аккумуляцию энергии, полученной от движения композиции. Модуль упругости описывает взаимодействие между эластичностью и прочностью ($G' = \text{напряжение/деформация}$) и, таким образом, обеспечивает количественное измерение твердости или мягкости композиции. Модуль упругости объекта определяется как наклон его кривой напряжение-деформация в области упругих деформаций: $\lambda = \text{напряжение/деформация}$, где λ представляет собой модуль упругости в паскалях; напряжение - сила, вызывающая деформацию, разделенная на площадь приложения силы, а деформация представляет собой отношение изменения исходного состояния объекта, вызванного стрессом. Более жесткая композиция будет обладать более высоким модулем упругости, и для заданного размера деформации, например, при инъекции, потребуется более значительная сила, хотя это зависит от скорости приложения силы. Задание способа измерения напряжения, включая направления, позволяет определить многие типы модулей упругости. Три основных модуля упругости представляют собой модуль упругости при растяжении, модуль сдвига, объемный модуль упругости.

Модуль вязкости также называют модулем потерь, поскольку он описывает энергию, теряющуюся в виде вязкого рассеяния. Тангенс δ является отношением модуля вязкости и модуля упругости, $\tan \delta = G''/G'$. Falcone, supra, 2009. Для значений тангенса δ , описанных в настоящем документе, тангенс δ получают из динамического модуля при частоте 1 Гц. Более низкие значения тангенса δ соответствуют более жесткой, твердой или более упругой композиции.

В еще одном варианте реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, характеризуется модулем упругости. В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется модулем упругости, например, приблизительно 25 Па, приблизительно 50 Па, приблизительно 75 Па, приблизительно 100 Па, приблизительно 125 Па, приблизительно 150 Па, приблизительно 175 Па, приблизительно 200 Па, приблизительно 250 Па, приблизительно 300 Па, приблизительно 350 Па, приблизительно 400 Па, приблизительно 450 Па, приблизительно 500 Па, приблизительно 550 Па, приблизительно 600 Па, приблизительно 650 Па, приблизительно 700 Па, приблизительно 750 Па, приблизительно 800 Па, приблизительно 850 Па, приблизительно 900 Па, приблизительно 950 Па, приблизительно 1000 Па, приблизительно 1200 Па, приблизительно 1300 Па, приблизительно 1400 Па, приблизительно 1500 Па, приблизительно 1600 Па, приблизительно 1700 Па, приблизительно 1800 Па, приблизительно 1900 Па, приблизительно 2000 Па, приблизительно 2100 Па, приблизительно 2200 Па, приблизительно 2300 Па, приблизительно 2400 Па или приблизительно 2500 Па.

В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция

характеризуется модулем упругости, например, по меньшей мере 25 Па, по меньшей мере 50 Па, по меньшей мере 75 Па, по меньшей мере 100 Па, по меньшей мере 125 Па, по меньшей мере 150 Па, по меньшей мере 175 Па, по меньшей мере 200 Па, по меньшей мере 250 Па, по меньшей мере 300 Па, по меньшей мере 350 Па, по меньшей мере 400 Па, по меньшей мере 450 Па, по меньшей мере 500 Па, по меньшей мере 550 Па, по меньшей мере 600 Па, по меньшей мере 650 Па, по меньшей мере 700 Па, по меньшей мере 750 Па, по меньшей мере 800 Па, по меньшей мере 850 Па, по меньшей мере 900 Па, по меньшей мере 950 Па, по меньшей мере 1000 Па, по меньшей мере 1200 Па, по меньшей мере 1300 Па, по меньшей мере 1400 Па, по меньшей мере 1500 Па, по меньшей мере 1600 Па, по меньшей мере 1700 Па, по меньшей мере 1800 Па, по меньшей мере 1900 Па, по меньшей мере 2000 Па, по меньшей мере 2100 Па, по меньшей мере 2200 Па, по меньшей мере 2300 Па, по меньшей мере 2400 Па или по меньшей мере 2500 Па.

В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется модулем упругости, например, не более 25 Па, не более 50 Па, не более 75 Па, не более 100 Па, не более 125 Па, не более 150 Па, не более 175 Па, не более 200 Па, не более 250 Па, не более 300 Па, не более 350 Па, не более 400 Па, не более 450 Па, не более 500 Па, не более 550 Па, не более 600 Па, не более 650 Па, не более 700 Па, не более 750 Па, не более 800 Па, не более 850 Па, не более 900 Па, не более 950 Па, не более 1000 Па, не более 1200 Па, не более 1300 Па, не более 1400 Па, не более 1500 Па или не более 1600 Па. В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется модулем упругости, например, от приблизительно 25 Па до приблизительно 150 Па, от приблизительно 25 Па до приблизительно 300 Па, от приблизительно 25 Па до приблизительно 500 Па, от приблизительно 25 Па до приблизительно 800 Па, от приблизительно 125 Па до приблизительно 300 Па, от приблизительно 125 Па до приблизительно 500 Па, от приблизительно 125 Па до приблизительно 800 Па, от приблизительно 500 Па до приблизительно 1600 Па, от приблизительно 600 Па до приблизительно 1600 Па, от приблизительно 700 Па до приблизительно 1600 Па, от приблизительно 800 Па до приблизительно 1600 Па, от приблизительно 900 Па до приблизительно 1600 Па, от приблизительно 1000 Па до приблизительно 1600 Па, от приблизительно 1100 Па до приблизительно 1600 Па, от приблизительно 1200 Па до приблизительно 1600 Па, от приблизительно 500 Па до приблизительно 2500 Па, от приблизительно 1000 Па до приблизительно 2500 Па, от приблизительно 1500 Па до приблизительно 2500 Па, от приблизительно 2000 Па до приблизительно 2500 Па, от приблизительно 1300 Па до приблизительно 1600 Па, от приблизительно 1400 Па до приблизительно 1700 Па, от приблизительно 1500 Па до приблизительно 1800 Па, от приблизительно 1600 Па до приблизительно 1900 Па, от приблизительно 1700 Па до приблизительно 2000 Па, от приблизительно 1800 Па до приблизительно 2100 Па, от приблизительно 1900 Па до приблизительно 2200 Па, от приблизительно 2000 Па до приблизительно 2300 Па, от приблизительно 2100 Па до приблизительно 2400 Па или от приблизительно 2200 Па до приблизительно 2500 Па.

В еще одном варианте реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, характеризуется модулем вязкости. В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется модулем вязкости, например, приблизительно 10 Па, приблизительно 20 Па, приблизительно 30 Па, приблизительно 40 Па, приблизительно 50 Па, приблизительно 60 Па, приблизительно 70 Па, приблизительно 80 Па, приблизительно 90 Па, приблизительно 100 Па, приблизительно 150 Па, приблизительно 200 Па, приблизительно 250 Па, приблизительно 300 Па, приблизительно 350 Па, приблизительно 400 Па, приблизительно 450 Па,

приблизительно 500 Па, приблизительно 550 Па, приблизительно 600 Па, приблизительно 650 Па или приблизительно 700 Па. В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется модулем вязкости, например, не более 10 Па, не более 20 Па, не более 30 Па, не более 40 Па, не более 50 Па, не более 60 Па, не более 70 Па, не более 80 Па, не более 90 Па, не более 100 Па, не более 150 Па, не более 200 Па, не более 250 Па, не более 300 Па, не более 350 Па, не более 400 Па, не более 450 Па, не более 500 Па, не более 550 Па, не более 600 Па, не более 650 Па или не более 700 Па. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется модулем вязкости, например, от приблизительно 10 Па до приблизительно 30 Па, от приблизительно 10 Па до приблизительно 50 Па, от приблизительно 10 Па до приблизительно 100 Па, от приблизительно 10 Па до приблизительно 150 Па, от приблизительно 70 Па до приблизительно 100 Па, от приблизительно 50 Па до приблизительно 350 Па, от приблизительно 150 Па до приблизительно 450 Па, от приблизительно 250 Па до приблизительно 550 Па, от приблизительно 350 Па до приблизительно 700 Па, от приблизительно 50 Па до приблизительно 150 Па, от приблизительно 100 Па до приблизительно 200 Па, от приблизительно 150 Па до приблизительно 250 Па, от приблизительно 200 Па до приблизительно 300 Па, от приблизительно 250 Па до приблизительно 350 Па, от приблизительно 300 Па до приблизительно 400 Па, от приблизительно 350 Па до приблизительно 450 Па, от приблизительно 400 Па до приблизительно 500 Па, от приблизительно 450 Па до приблизительно 550 Па, от приблизительно 500 Па до приблизительно 600 Па, от приблизительно 550 Па до приблизительно 650 Па или от приблизительно 600 Па до приблизительно 700 Па.

В еще одном варианте реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, характеризуется тангенсом δ . В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется тангенсом δ , например, приблизительно 0,1, приблизительно 0,2, приблизительно 0,3, приблизительно 0,4, приблизительно 0,5, приблизительно 0,6, приблизительно 0,7, приблизительно 0,8, приблизительно 0,9, приблизительно 1,0, приблизительно 1,1, приблизительно 1,2, приблизительно 1,3, приблизительно 1,4, приблизительно 1,5, приблизительно 1,6, приблизительно 1,7, приблизительно 1,8, приблизительно 1,9, приблизительно 2,0, приблизительно 2,1, приблизительно 2,2, приблизительно 2,3, приблизительно 2,4 или приблизительно 2,5. В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется тангенсом δ , например, не более 0,1, не более 0,2, не более 0,3, не более 0,4, не более 0,5, не более 0,6, не более 0,7, не более 0,8, не более 0,9, не более 1,0, не более 1,1, не более 1,2, не более 1,3, не более 1,4, не более 1,5, не более 1,6, не более 1,7, не более 1,8, не более 1,9, не более 2,0, не более 2,1, не более 2,2, не более 2,3, не более 2,4 или не более 2,5. В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется тангенсом δ , например, от приблизительно 0,1 до приблизительно 0,3, от приблизительно 0,3 до приблизительно 0,5, от приблизительно 0,5 до приблизительно 0,8, от приблизительно 1,1 до приблизительно 1,4, от приблизительно 1,4 до приблизительно 1,7, от приблизительно 0,3 до приблизительно 0,6, от приблизительно 0,1 до приблизительно 0,5, от приблизительно 0,5 до приблизительно 0,9, от приблизительно 0,1 до приблизительно 0,6, от приблизительно 0,1 до приблизительно 1,0, от приблизительно 0,5 до приблизительно 1,5, от приблизительно 1,0 до приблизительно 2,0 или от приблизительно 1,5 до приблизительно 2,5.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, обладающие прозрачностью и/или просвечиваемостью. Оптическая прозрачность

является физическим свойством, позволяющим видимому свету проходить через материал, в то время как просвечиваемость (также называемая просвечиванием или полупрозрачностью) обеспечивает лишь диффузное прохождение света.

Противоположным свойством является непрозрачность. Прозрачные материалы

5 являются чисто прозрачными, в то время как через просвечиваемые материалы видно нечетко. Гидрогели, описанные в настоящем документе, предпочтительно являются оптически прозрачными или по меньшей мере просвечиваемыми.

В одном из вариантов реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, является оптически просвечиваемой. В аспектах указанного варианта
10 реализации гидрогелевая композиция диффузно пропускает, например, приблизительно 75% света, приблизительно 80% света, приблизительно 85% света, приблизительно 90% света, приблизительно 95% света или приблизительно 100% света. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция диффузно пропускает, например, по меньшей мере 75% света, по меньшей мере 80% света, по меньшей мере
15 85% света, по меньшей мере 90% света или по меньшей мере 95% света. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция диффузно пропускает, например, от приблизительно 75% до приблизительно 100% света, от приблизительно 80% до приблизительно 100% света, от приблизительно 85% до приблизительно 100% света, от приблизительно 90% до приблизительно 100% света или от приблизительно
20 95% до приблизительно 100% света. В одном из вариантов реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, является оптически прозрачной и пропускает 100% видимого света.

Гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, можно дополнительно обработать путем измельчения гидрогеля до состояния частиц и,
25 необязательно, смешивания с несущей фазой, например, водой или физиологическим раствором с получением вещества для инъекций или местного применения, например, раствора, масла, лосьона, геля, мази, крема, суспензии, бальзама или пасты. В связи с этим описанные гидрогелевые композиции могут быть однофазными или многофазными композициями. Гидрогель можно измельчить до частиц диаметром от приблизительно
30 10 мкм до приблизительно 1000 мкм, например, от приблизительно 15 мкм до приблизительно 30 мкм, от приблизительно 50 мкм до приблизительно 75 мкм, от приблизительно 100 мкм до приблизительно 150 мкм, от приблизительно 200 мкм до приблизительно 300 мкм, от приблизительно 450 мкм до приблизительно 550 мкм, от приблизительно 600 мкм до приблизительно 700 мкм, от приблизительно 750 мкм до
35 приблизительно 850 мкм или от приблизительно 900 мкм до приблизительно 1000 мкм.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают инъекруемую композицию, описанную в настоящем документе. В настоящем документе термин “инъектируемый” относится к материалу, обладающему свойствами, необходимыми для введения композиции в кожу индивидуума с помощью инъекционного устройства с
40 тонкой иглой. В настоящем описании термин “тонкая игла” относится к игле 27 калибра или менее. Инъектируемости композиции, описанной в настоящем документе, можно достичь путем получения размеров частиц гидрогеля, как обсуждалось выше.

В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, является инъекруемой через тонкую иглу. В других аспектах
45 указанного варианта реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, является инъекруемой через иглу, например, приблизительно 27 калибра, приблизительно 30 калибра или приблизительно 32 калибра. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем

документе, является инъектируемой через иглу, например, 22 калибра или менее, 27 калибра или менее, 30 калибра или менее или 32 калибра или менее. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, является инъектируемой через иглу, например, от приблизительно 22 калибра до приблизительно 35 калибра, от приблизительно 22 калибра до приблизительно 34 калибра, от приблизительно 22 калибра до приблизительно 33 калибра, от приблизительно 22 калибра до приблизительно 32 калибра, от приблизительно 22 калибра до приблизительно 27 калибра, от приблизительно 27 калибра до приблизительно 32 калибра.

В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, можно вводить, используя усилие выдавливания приблизительно 60 Н, приблизительно 55 Н, приблизительно 50 Н, приблизительно 45 Н, приблизительно 40 Н, приблизительно 35 Н, приблизительно 30 Н, приблизительно 25 Н, приблизительно 20 Н, от приблизительно 15 Н со скоростью 100 мм/мин. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, можно вводить через иглу 27 калибра, используя усилие выдавливания приблизительно 60 Н или менее, приблизительно 55 Н или менее, приблизительно 50 Н или менее, приблизительно 45 Н или менее, приблизительно 40 Н или менее, приблизительно 35 Н или менее, приблизительно 30 Н или менее, приблизительно 25 Н или менее, приблизительно 20 Н или менее, приблизительно 15 Н или менее, приблизительно 10 Н или менее или приблизительно 5 Н или менее. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, можно вводить через иглу 30 калибра, используя усилие выдавливания приблизительно 60 Н или менее, приблизительно 55 Н или менее, приблизительно 50 Н или менее, приблизительно 45 Н или менее, приблизительно 40 Н или менее, приблизительно 35 Н или менее, приблизительно 30 Н или менее, приблизительно 25 Н или менее, приблизительно 20 Н или менее, приблизительно 15 Н или менее, приблизительно 10 Н или менее или приблизительно 5 Н или менее. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, можно вводить через иглу 32 калибра, используя усилие выдавливания приблизительно 60 Н или менее, приблизительно 55 Н или менее, приблизительно 50 Н или менее, приблизительно 45 Н или менее, приблизительно 40 Н или менее, приблизительно 35 Н или менее, приблизительно 30 Н или менее, приблизительно 25 Н или менее, приблизительно 20 Н или менее, приблизительно 15 Н или менее, приблизительно 10 Н или менее или приблизительно 5 Н или менее.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, обладающую сцепляемостью. Сцепляемость, также называемая сцеплением, силой сцепления или силой сжатия, является физическим свойством материала, вызванного межмолекулярным притяжением между сходными молекулами в материале, объединяющим молекулы. Сцепляемость выражают в грамм-силах (гс). Способность к сцеплению зависит от, среди других факторов, соотношения молекулярных масс исходного свободного гликозаминогликанового полимера, степени сшивки гликозаминогликановых полимеров, количества остаточных свободных гликозаминогликановых полимеров после сшивки и pH гидрогелевой композиции.

Композиция должна быть достаточно сцепляемой, чтобы оставаться локализованной в месте введения. Кроме того, в некоторых вариантах применения, достаточная способность к сцеплению имеет важное значение для сохранения формы и, таким образом, функциональности композиции в случае периодической механической нагрузки.

В связи с этим, в одном варианте реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, обладает сцепляемостью, аналогичной сцепляемости воды. В еще одном варианте реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, обладает достаточной сцепляемостью для того, чтобы оставаться локализованной в месте введения. В еще одном варианте реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, обладает достаточной сцепляемостью для того, чтобы сохранять форму. В дополнительном варианте реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, обладает достаточной сцепляемостью для того, чтобы сохранять форму и функциональность.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, обладающую физиологически приемлемой осмолярностью. В настоящем документе термин “осмолярность” относится к концентрации осмотически активных растворенных веществ в растворе. В настоящем документе термин “физиологически приемлемая осмолярность” относится к осмолярности, соответствующей или характерной для нормального функционирования живого организма. Таким образом, введение гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, проявляет осмолярность, по существу не оказывающую долгосрочного или постоянного вредного воздействия при введении млекопитающему. Осмолярность выражают в осмолях осмотически активного растворенного вещества на литр растворителя (осмоль/л). Осмолярность отличается от молярности тем, что она измеряется в молях осмотически активных частиц растворенного вещества, а не молях растворенного вещества. Указанное различие возникает потому, что некоторые соединения могут диссоциировать в растворе, в то время как другие - не могут. Осмолярность раствора можно рассчитать по следующему выражению: $\text{Осмоль/л} = \sum \phi_i \eta_i C_i$, где ϕ - осмотический коэффициент, который относится к степени неидеальности раствора; η - число частиц (например, ионов), на которые диссоциирует молекула; C - молярная концентрация растворенного вещества; а i - индекс, представляющий вид конкретного растворенного вещества. Осмолярность гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, можно измерить с помощью общепринятого способа измерения растворов.

В одном из вариантов реализации гидрогелевая композиция, описанная в настоящем документе, характеризуется физиологически приемлемой осмоляльностью. В настоящем документе термин “осмоляльность” относится к концентрации осмотически активных растворенных веществ на килограмм растворителя в организме. В настоящем документе термин “физиологически приемлемая осмоляльность” относится к осмоляльности, соответствующей или характерной для нормального функционирования живого организма. Таким образом, введение гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, проявляет осмоляльность, по существу не оказывающую долгосрочного или постоянного вредного воздействия при введении млекопитающему. Осмоляльность выражается в осмолях осмотически активного вещества на килограмм растворителя (осмоль/кг) и равна сумме осмоляльностей всех растворенных веществ, присутствующих в указанном растворе. Осмоляльность раствора можно измерить с помощью осмометра. Прибором, наиболее часто используемым в современных лабораториях, является осмометр на основе снижения температуры замерзания. Это приборы измеряют изменение температуры замерзания раствора с увеличением осмоляльности (осмометр на основе снижения температуры замерзания) или изменение давления пара раствора с увеличением осмоляльности (осмометр на основе снижения давления пара).

В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция

характеризуется осмолярностью, например, приблизительно 100 мосмоль/л, приблизительно 150 мосмоль/л, приблизительно 200 мосмоль/л, приблизительно 250 мосмоль/л, приблизительно 300 мосмоль/л, приблизительно 350 мосмоль/л, приблизительно 400 мосмоль/л, приблизительно 450 мосмоль/л или приблизительно 500 мосмоль/л. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется осмолярностью, например, по меньшей мере 100 мосмоль/л, по меньшей мере 150 мосмоль/л, по меньшей мере 200 мосмоль/л, по меньшей мере 250 мосмоль/л, по меньшей мере 300 мосмоль/л, по меньшей мере 350 мосмоль/л, по меньшей мере 400 мосмоль/л, по меньшей мере 450 мосмоль/л или по меньшей мере 500 мосмоль/л. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется осмолярностью, например, не более 100 мосмоль/л, не более 150 мосмоль/л, не более 200 мосмоль/л, не более 250 мосмоль/л, не более 300 мосмоль/л, не более 350 мосмоль/л, не более 400 мосмоль/л, не более 450 мосмоль/л или не более 500 мосмоль/л. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция характеризуется осмолярностью, например, от приблизительно 100 мосмоль/л до приблизительно 500 мосмоль/л, от приблизительно 200 мосмоль/л до приблизительно 500 мосмоль/л, от приблизительно 200 мосмоль/л до приблизительно 400 мосмоль/л, от приблизительно 300 мосмоль/л до приблизительно 400 мосмоль/л, от приблизительно 270 мосмоль/л до приблизительно 390 мосмоль/л, от приблизительно 225 мосмоль/л до приблизительно 350 мосмоль/л, от приблизительно 250 мосмоль/л до приблизительно 325 мосмоль/л, от приблизительно 275 мосмоль/л до приблизительно 300 мосмоль/л или от приблизительно 285 мосмоль/л до приблизительно 290 мосмоль/л.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, обладающую повышенной стабильностью. В настоящем документе термин “стабильность” или “стабильный” по отношению к гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, относится к композиции, не склонной к разрушению, разложению или распаду в существенной или значительной степени при хранении перед введением индивидууму. В настоящем документе термин “повышенная термостабильность”, “в значительной степени термически стабильный”, “стабильный при автоклавировании” или “стабильный при стерилизации паром” относится к гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, являющейся в значительной степени стабильной при термической обработке, как описано в настоящем документе.

Стабильность гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, можно определить, подвергая гидрогелевую композицию термической обработке, например, стерилизации паром при нормальном давлении или под давлением (например, автоклавированию). Предпочтительно, термическую обработку проводят при температуре, по меньшей мере, приблизительно 100°C в течение от приблизительно одной минуты до приблизительно 10 минут. Повышенную стабильность гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, можно оценить 1) путем определения изменения усилия выдавливания (ΔF) гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, после стерилизации, где изменение усилия выдавливания менее чем на 2 Н указывает на повышенную стабильность гидрогелевой композиции, согласно измерениям (усилия выдавливания гидрогелевой композиции с указанными добавками) минус (усилие выдавливания гидрогелевой композиции без дополнительных добавок); или 2) путем определения изменения реологических свойств гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, после стерилизации, где изменение тангенса δ 1 Гц

менее чем на 0,1 указывает на повышенную стабильность гидрогелевой композиции, согласно измерениям (тангенса δ 1 Гц гелевого состава с добавками) минус (тангенс δ 1 Гц гелевого состава без добавок). Таким образом, гидрогелевая композиция с повышенной стабильностью, описанная в настоящем документе, после стерилизации

5 сохраняет одну или более из следующих характеристик: гомогенность, усилие выдавливания, сцепляемость, концентрацию гиалуронана, концентрацию агента(ов), осмолярность, pH или другие реологические характеристики, желательные для гидрогеля до термической обработки.

В одном из вариантов реализации гидрогелевую композицию, содержащую

10 гликозаминогликановый полимер и по меньшей мере один агент, описанный в настоящем документе, обрабатывают с помощью термической обработки, сохраняющей свойства желательного гидрогеля, описанные в настоящем документе. В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевую композицию, содержащую

15 глюкозаминогликановый полимер и по меньшей мере один агент, описанный в настоящем документе, обрабатывают путем термической обработки, например, при приблизительно 100°C, приблизительно 105°C, приблизительно 110°C, приблизительно 115°C, приблизительно 120°C, приблизительно 125°C или приблизительно 130°C. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевую композицию, содержащую

20 глюкозаминогликановый полимер и по меньшей мере один агент, описанный в настоящем документе, обрабатывают путем термической обработки, например, при по меньшей мере 100°C, по меньшей мере 105°C, по меньшей мере 110°C, по меньшей мере 115°C, по меньшей мере 120°C, по меньшей мере 125°C или по меньшей мере 130°C. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевую композицию, содержащую

25 глюкозаминогликановый полимер и по меньшей мере один агент, описанный в настоящем документе, обрабатывают путем термической обработки, например, при от приблизительно 100°C до приблизительно 120°C, от приблизительно 100°C до приблизительно 125°C, от приблизительно 100°C до приблизительно 130°C, от приблизительно 100°C до приблизительно 135°C, от приблизительно 110°C до

30 приблизительно 120°C, от приблизительно 110°C до приблизительно 125°C, от приблизительно 110°C до приблизительно 130°C, от приблизительно 110°C до приблизительно 135°C, от приблизительно 120°C до приблизительно 125°C, от приблизительно 120°C до приблизительно 130°C, от приблизительно 120°C до приблизительно 135°C, от приблизительно 125°C до приблизительно 130°C или от приблизительно 125°C до приблизительно 135°C.

35 Долговременную стабильность гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, можно определить, подвергая гидрогелевую композицию термической обработке, например, хранению при приблизительно 45°C в течение приблизительно 60 дней. Долговременную стабильность гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, можно оценить 1) путем оценки прозрачности и цвета

40 гидрогелевой композиции после термической обработки при 45°C, причем прозрачная и бесцветная гидрогелевая композиция указывает на повышенную стабильность гидрогелевой композиции; 2) путем определения изменения усилия выдавливания (ΔF) гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, после термической обработки при 45°C, где изменение усилия выдавливания менее чем на 2 Н указывает

45 на повышенную стабильность гидрогелевой композиции, согласно измерениям (усилия выдавливания гидрогелевой композиции с указанными добавками до термической обработки при 45°C) минус (усилие выдавливания гидрогелевой композиции с указанными добавками после термической обработки при 45°C); или 3) путем

определения изменения реологических свойств гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, после стерилизации, где изменение тангенса δ 1 Гц менее чем на 0,1 указывает на повышенную стабильность гидрогелевой композиции, согласно измерениям (тангенса δ 1 Гц гелевого состава с указанными добавками до термической обработки при 45°C) минус (тангенс δ 1 Гц гелевого состава с указанными добавками после термической обработки при 45°C). В связи с этим долгосрочную стабильность гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, оценивают по сохранению одной или более из следующих характеристик после термической обработки при 45°C: прозрачности (прозрачности и просвечиваемости), гомогенности и сцепляемости.

В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция является высокостабильной при комнатной температуре в течение, например, приблизительно 3 месяцев, приблизительно 6 месяцев, приблизительно 9 месяцев, приблизительно 12 месяцев, приблизительно 15 месяцев, приблизительно 18 месяцев, приблизительно 21 месяца, приблизительно 24 месяцев, приблизительно 27 месяцев, приблизительно 30 месяцев, приблизительно 33 месяцев или приблизительно 36 месяцев. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция является высокостабильной при комнатной температуре в течение, например, по меньшей мере 3 месяцев, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 15 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 21 месяца, по меньшей мере 24 месяцев, по меньшей мере 27 месяцев, по меньшей мере 30 месяцев, по меньшей мере 33 месяцев или по меньшей мере 36 месяцев. В других аспектах указанного варианта реализации гидрогелевая композиция является высокостабильной при комнатной температуре, например, в течение от приблизительно 3 месяцев до приблизительно 12 месяцев, от приблизительно 3 месяцев до приблизительно 18 месяцев, от приблизительно 3 месяцев до приблизительно 24 месяцев, от приблизительно 3 месяцев до приблизительно 30 месяцев, от приблизительно 3 месяцев до приблизительно 36 месяцев, от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 12 месяцев, от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 18 месяцев, от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 24 месяцев, от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 30 месяцев, от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 36 месяцев, от приблизительно 9 месяцев до приблизительно 12 месяцев, от приблизительно 9 месяцев до приблизительно 18 месяцев, от приблизительно 9 месяцев до приблизительно 24 месяцев, от приблизительно 9 месяцев до приблизительно 30 месяцев, от приблизительно 9 месяцев до приблизительно 36 месяцев, от приблизительно 12 месяцев до приблизительно 18 месяцев, от приблизительно 12 месяцев до приблизительно 24 месяцев, от приблизительно 12 месяцев до приблизительно 30 месяцев, от приблизительно 12 месяцев до приблизительно 36 месяцев, от приблизительно 18 месяцев до приблизительно 24 месяцев, от приблизительно 18 месяцев до приблизительно 30 месяцев или от приблизительно 18 месяцев до приблизительно 36 месяцев.

Настоящие композиции необязательно могут содержать, без ограничений, другие фармацевтически приемлемые компоненты, включая, без ограничений, буферы, консерванты, регуляторы тоничности, соли, антиоксиданты, регуляторы осмотического давления, эмульгаторы, увлажнители и т.п.

Фармацевтически приемлемый буфер является буфером, который можно применять для получения гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, при условии, что полученный препарат является фармацевтически приемлемым. Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых буферов включают ацетатные буферы, боратные буферы, цитратные буферы, нейтральные забуференные

физиологические растворы, фосфатные буферы и физиологические растворы с фосфатным буфером. Фармацевтически приемлемый буфер любой концентрации можно применять при приготовлении фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе, при условии, что при использовании указанной эффективной концентрации буфера получают терапевтически эффективное количество активного ингредиента. Неограничивающие примеры концентраций физиологически приемлемых буферов содержатся в диапазоне от приблизительно 0,1 мМ до приблизительно 900 мМ. рН фармацевтически приемлемых буферов можно корректировать при условии, что полученный препарат является фармацевтически приемлемым. Следует понимать, что для коррекции рН фармацевтической композиции при необходимости можно использовать кислоты или основания. При приготовлении фармацевтической композиции можно использовать буфер с любым уровнем рН при условии, что при использовании указанного эффективного уровня рН получают терапевтически эффективное количество полимера матрикса. Неограничивающие примеры физиологически приемлемого рН содержатся в диапазоне от приблизительно рН 5,0 до приблизительно рН 8,5. Например, рН гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, может находиться в пределах от приблизительно 5,0 до приблизительно 8,0, от приблизительно 6,5 до приблизительно 7,5, от приблизительно 7,0 до приблизительно 7,4, от приблизительно 7,1 до приблизительно 7,3.

Фармацевтически приемлемые консерванты включают, без ограничения, метабисульфит натрия, тиосульфат натрия, ацетилцистеин, бутилированный гидроксианизол и бутилированный гидрокситолуол. Фармацевтически приемлемые консерванты включают, без ограничений, бензалкония хлорид, хлорбутанол, тимеросал, ацетат фенилртути, нитрат фенилртути, стабилизированную окси-хлор-композицию, например, PURITE® (Allergan, Inc., Ирвин, штат Калифорния, США) и хелатирующие агенты, например, ДТПА или ДТПА-бисамид, ДТПА кальция и CaNa ДТПА-бисамид.

Фармацевтически приемлемые регуляторы тоничности, которые можно применять в гидрогелевых композициях, описанных в настоящем документе, включают, без ограничения, например, хлорид натрия и хлорид калия; и глицерин. Композиция может быть представлена в виде соли и может быть приготовлена с применением большого количества кислот, включая соляную, серную, уксусную, молочную, винную, яблочную, янтарную и др. кислоты, но не ограничиваясь ими. Соли, как правило, более растворимы в водном или других протонных растворителях, чем соответствующие формы свободных оснований. Следует понимать, что указанные и другие вещества, известные в области фармакологии, можно включать в фармацевтическую композицию, описанную в настоящем документе. Другие неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых компонентов можно найти, например, в Ansel, *supra*, (1999); Gennaro, *supra*, (2000); Hardman, *supra*, (2001); и Rowe, *supra*, (2003), каждая из которых полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают способ лечения состояния мягких тканей у индивида путем введения гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе. В настоящем документе термин “лечение” относится к снижению или устранению косметического или клинического симптома состояния мягких тканей у индивида, характеризующегося несовершенством, дефектом, заболеванием и/или расстройством мягких тканей; или задержкой или профилактикой возникновения у индивида косметического или клинического симптома состояния, характеризующегося несовершенством, дефектом, заболеванием или расстройством мягких тканей. Например, термин “лечение” может означать ослабление симптома состояния, характеризующегося

дефектом, заболеванием и/или расстройством мягких тканей, например, на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 100%. Эффективность гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, при лечении состояния, характеризующегося дефектом, заболеванием или расстройством мягких тканей, можно определить, наблюдая за одним или более косметическими, клиническими симптомами или физиологическими показателями, ассоциированными с указанным состоянием. Улучшение дефекта, заболевания и/или расстройства мягких тканей также может быть показано вследствие сниженной потребности в одновременной терапии. Специалисты в данной области техники знают соответствующие симптомы или показатели, ассоциированные с конкретным дефектом, заболеванием или расстройством мягких тканей, и знают, как определить, является ли индивид кандидатом для лечения с помощью соединения или композиции, описанной в настоящем документе.

Гидрогелевую композицию в соответствии с настоящим изобретением вводят индивиду. Индивид обычно является человеком любого возраста, пола или расы. Как правило, любой индивид, являющийся кандидатом для общепринятой процедуры для лечения состояния мягких тканей, является кандидатом для способа, описанного в настоящем документе. Хотя субъект, испытывающий признаки старения кожи, является взрослым, субъектов, испытывающих преждевременное старение или другие состояния кожи, подходящие для лечения (например, шрамы), также можно лечить с помощью гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе. Кроме того, описанные в настоящее время гидрогелевые композиции и способы можно применять для лиц, желающих получить небольшое/умеренное увеличение, изменение формы или очертаний части или области тела, не осуществимое технически или неприемлемое с эстетической точки зрения с помощью существующей технологии имплантации мягких тканей. Дооперационная оценка обычно включает стандартную оценку анамнеза и медицинский осмотр, помимо тщательного информированного согласия, описывающего все соответствующие риски и преимущества процедуры.

Гидрогелевые композиции и способы, описанные в настоящем документе, подходят для применения для лечения состояния мягких тканей. Состояние мягких тканей включает, без ограничения, несовершенство, дефект, заболевание или расстройство мягких тканей. Неограничивающие примеры состояния мягких тканей включают несовершенство, дефект, заболевание или расстройство молочной железы, например, увеличение молочной железы, реконструкцию молочной железы, мастопексию, микромастию, гипоплазию грудной клетки, синдром Поланда, дефекты, вызванные осложнениями имплантации, например, сужением и/или разрывом капсулы; несовершенство, дефект, заболевание или расстройство лица, например, увеличение лица, реконструкцию лица, мезотерапию, синдром Парри-Ромберга, системную красную волчанку глубоких тканей, углубления дермы, шрамы, впалые щеки, тонкие губы, недостатки или дефекты носа, недостатки или дефекты ретроорбитальной области, складки лица, складки и/или морщины, например, межбровную морщину, носогубные складки, околоротовые морщины и/или вертикальные морщины от уголков губ к подбородку, и/или другие деформации контура или несовершенства лица; несовершенство, дефект, заболевание или расстройство шеи; несовершенство, дефект, заболевание или расстройство кожи; другие несовершенства, дефекты, заболевания или расстройства мягких тканей, например, увеличение или реконструкция плеча, предплечья, кисти, плечелопаточной области, спины, туловища, в том числе живота,

ягодиц, бедра, голени, включая икроножную область, стопы, включая подошвенную жировую мозоль, глаз, гениталий, или другой части тела или области, или заболевания или расстройства, поражающего указанные части и области тела; недержание мочи, кала, другие виды недержания; и гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (GERD). В настоящем документе термин “мезотерапия” относится к методике нехирургического косметического лечения кожи, включающей интраэпидермальную, внутрикожную или подкожную инъекцию агента, вводимого в виде мелких множественных капель в эпидермис, дермоэпидермальное соединение и/или дерму.

Количество композиции гидрогеля, используемое при любом из способов, описанных в настоящем документе, как правило, определяют на основе желательного изменения и/или улучшения, желательного снижения и/или устранения симптома состояния мягких тканей, клинического и/или косметического эффекта, желательного для индивида и/или врача, и части или области тела, подвергаемой лечению. Эффективность введения композиции может проявляться одним или более из следующих клинических и/или косметических показателей: измененной и/или улучшенной формой мягких тканей, измененным и/или улучшенным размером мягких тканей, измененным и/или улучшенным контуром мягких тканей, измененной и/или улучшенной функцией ткани, поддержкой вращающего в ткань и/или новыми отложениями коллагена, устойчивым приживлением композиции, улучшенными удовлетворенностью и/или качеством жизни пациента и пониженным использованием имплантируемых посторонних материалов.

Эффективность композиций и способов при лечении мягких тканей лица может проявляться одним или более из следующих клинических и/или косметических показателей: увеличенным размером, формой и/или контуром черт лица, например, увеличенным размером, формой и/или контуром губ, щек или области глаз; измененным размером, формой и/или контуром черт лица, например, измененным размером, формой и/или контуром губ, щек или области глаз; уменьшением или устранением морщин или складок кожи; устойчивостью к морщинам или складкам кожи; регидратацией кожи; повышенной эластичностью кожи; уменьшением или устранением неровностей кожи; повышенной и/или улучшенной упругостью кожи; уменьшением или устранением растяжек; повышенным и/или улучшенным тоном, блеском, или яркостью кожи, повышенным и/или улучшенным цветом кожи, снижением или устранением бледности кожи; устойчивым приживлением композиции, пониженными побочными эффектами, улучшенной удовлетворенностью и/или качеством жизни пациента.

В качестве еще одного примера для процедур, связанных с недержанием мочи, эффективность композиций и способов для поддержки сфинктера может проявляться одним или более из следующих клинических показателей: снижением частоты недержания, устойчивым приживлением, улучшенными удовлетворенностью и/или качеством жизни пациента и пониженным использованием имплантируемого чужеродного наполнителя.

В аспектах указанного варианта реализации вводимое количество гидрогелевой композиции составляет, например, приблизительно 0,01 г, приблизительно 0,05 г, приблизительно 0,1 г, приблизительно 0,5 г, приблизительно 1 г, приблизительно 5 г, приблизительно 10 г, приблизительно 20 г, приблизительно 30 г, приблизительно 40 г, приблизительно 50 г, приблизительно 60 г, приблизительно 70 г, приблизительно 80 г, приблизительно 90 г, приблизительно 100 г, приблизительно 150 г или приблизительно 200 г. В других аспектах указанного варианта реализации вводимое количество гидрогелевой композиции составляет, например, от приблизительно 0,01 г до приблизительно 0,1 г, от приблизительно 0,1 г до приблизительно 1 г, от приблизительно

1 г до приблизительно 10 г, от приблизительно 10 г до приблизительно 100 г или от приблизительно 50 г до приблизительно 200 г. В других аспектах указанного варианта реализации вводимое количество гидрогелевой композиции составляет, например, приблизительно 0,01 мл, приблизительно 0,05 мл, приблизительно 0,1 мл, приблизительно 0,5 мл, приблизительно 1 мл, приблизительно 5 мл, приблизительно 10 мл, приблизительно 20 мл, приблизительно 30 мл, приблизительно 40 мл, приблизительно 50 мл, приблизительно 60 мл, приблизительно 70 г, приблизительно 80 мл, приблизительно 90 мл, приблизительно 100 мл, приблизительно 150 мл или приблизительно 200 мл. В других аспектах указанного варианта реализации вводимое количество гидрогелевой композиции составляет, например, от приблизительно 0,01 мл до приблизительно 0,1 мл, от приблизительно 0,1 мл до приблизительно 1 мл, от приблизительно 1 мл до приблизительно 10 мл, от приблизительно 10 мл до приблизительно 100 мл или от приблизительно 50 мл до приблизительно 200 мл.

Продолжительность лечения, как правило, определяют на основе клинического и/или косметического эффекта, желательного для индивида и/или врача, и части или области тела, подвергаемой лечению. В аспектах указанного варианта реализации введение гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, может лечить состояние мягких тканей в течение, например, приблизительно 6 месяцев, приблизительно 7 месяцев, приблизительно 8 месяцев, приблизительно 9 месяцев, приблизительно 10 месяцев, приблизительно 11 месяцев, приблизительно 12 месяцев, приблизительно 13 месяцев, приблизительно 14 месяцев, приблизительно 15 месяцев, приблизительно 18 месяцев или приблизительно 24 месяцев. В других аспектах указанного варианта реализации введение гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, может лечить состояние мягких тканей в течение, например, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 7 месяцев, по меньшей мере 8 месяцев, по меньшей мере 9 месяцев, по меньшей мере 10 месяцев, по меньшей мере 11 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 13 месяцев, по меньшей мере 14 месяцев, по меньшей мере 15 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев или по меньшей мере 24 месяцев. В других аспектах указанного варианта реализации введение гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, может лечить состояние мягких тканей в течение, например, от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 12 месяцев, от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 15 месяцев, от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 18 месяцев, от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 21 месяца, от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 24 месяцев, от приблизительно 9 месяцев до приблизительно 12 месяцев, от приблизительно 9 месяцев до приблизительно 15 месяцев, от приблизительно 9 месяцев до приблизительно 18 месяцев, от приблизительно 9 месяцев до приблизительно 21 месяца, от приблизительно 9 месяцев до приблизительно 24 месяцев, от приблизительно 12 месяцев до приблизительно 15 месяцев, от приблизительно 12 месяцев до приблизительно 18 месяцев, от приблизительно 12 месяцев до приблизительно 21 месяца, от приблизительно 12 месяцев до приблизительно 24 месяцев, от приблизительно 15 месяцев до приблизительно 18 месяцев, от приблизительно 15 месяцев до приблизительно 21 месяца, от приблизительно 15 месяцев до приблизительно 24 месяцев, от приблизительно 18 месяцев до приблизительно 21 месяца, от приблизительно 18 месяцев до приблизительно 24 месяцев или от приблизительно 21 месяца до приблизительно 24 месяцев.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают введение гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе. В настоящем документе термин “введение” означает любой механизм, который обеспечивает доставку композиции,

описанной в настоящем документе, в организм индивида, что потенциально приводит к клинически, терапевтически или экспериментально благоприятному результату. Фактический механизм доставки, используемый для введения композиции индивиду, может определить специалист в данной области техники, принимая во внимание

5 факторы, включающие, без ограничений, тип состояния кожи, местоположение очага состояния кожи, причину состояния кожи, тяжесть состояния кожи, степень желательного облегчения, продолжительность желательного облегчения, конкретную используемую композицию, скорость выведения конкретной используемой композиции, фармакодинамику конкретной используемой композиции, природу других соединений,

10 включенных в конкретную используемую композицию, конкретный путь введения, особенности, анамнез и факторы риска индивида, например, возраст, вес, общее состояние здоровья и т.п., или любую их комбинацию. В одном из аспектов указанного варианта реализации композицию, описанную в настоящем документе, вводят в кожу индивида путем инъекции.

15 Путь введения гидрогелевой композиции отдельному пациенту, как правило, определяют на основе клинического и/или косметического эффекта, желательного для индивида и/или врача, и части или области тела, подвергаемой лечению. Композицию, описанную в настоящем документе, можно вводить любыми средствами, известными специалистам в данной области техники, включая, без ограничений, шприц с иглой,

20 пистолет (например, гидропневматический компрессионный пистолет), катетер, средства для наружного применения, или путем прямой хирургической имплантации.

Гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, можно вводить в такую область кожи, как, например, область дермы или гиподермальную область. Например, гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, можно вводить,

25 используя иглы диаметром от приблизительно 0,26 мм до приблизительно 0,4 мм и длиной от приблизительно 4 мм до приблизительно 14 мм. В качестве альтернативы, иглы могут быть от 21 до 32 G и иметь длину от приблизительно 4 мм до приблизительно 70 мм. Предпочтительно, игла является одноразовой иглой. Иглу можно объединить со шприцем, катетером и/или пистолетом.

30 Кроме того, композицию, описанную в настоящем документе, можно вводить однократно или множество раз. В конечном счете сроки использования будут соответствовать стандартам качества ухода за больными. Например, гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, можно вводить однократно или в течение нескольких сеансов, разделенных периодами в несколько дней или недель.

35 Например, индивиду можно вводить гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней, или каждые 1, 2, 3 или 4 недели. Введение гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, можно осуществлять раз в месяц или раз в два месяца или каждые 3, 6, 9 или 12 месяцев.

Аспекты настоящего описания, в частности, обеспечивают область дермы. В

40 настоящем документе термин “область дермы” относится к области кожи, включающей эпидермально-дермальное соединение и дерму, включая поверхностную дерму (сосочковая область) и глубокую дерму (сетчатая область). Кожа состоит из трех основных слоев: эпидермиса, который обеспечивает гидроизоляцию и служит барьером для инфекции; дермы, которая служит местоположением придатков кожи; и гиподермы

45 (подкожного жирового слоя). Эпидермис не содержит кровеносных сосудов и питается путем диффузии из дермы. Основные типы клеток, составляющих эпидермис, - кератиноциты, меланоциты, клетки Лангерганса и клетки Меркеля.

Дерма - это слой кожи под эпидермисом, который состоит из соединительной ткани

и амортизирует давление и напряжение на организм. Дерма плотно соединена с эпидермисом базальной мембраной. Она также несет много механорецепторов/нервных окончаний, которые обеспечивают чувство прикосновения и тепла. Она содержит волосяные фолликулы, потовые железы, сальные железы, апокриновые железы, лимфатические сосуды и кровеносные сосуды. Кровеносные сосуды дермы обеспечить питание и удаление отходов ее клеток, а также базального слоя эпидермиса. Дерма структурно подразделяется на две области: поверхностную, прилегающую к эпидермису, называемую сосочковой областью, и глубокую более толстую область, известную как сетчатая область.

Сосочковая область состоит из рыхлой соединительной ткани, разделенной на ареолы. Ее название обусловлено ее пальцевидными выростами, называемыми сосочками, которые простираются к эпидермису. Сосочки обеспечивают дерму “бугорчатой” поверхностью, которая смыкается с эпидермисом, укрепляя связь между указанными двумя слоями кожи. Сетчатая область лежит глубже сосочковой области и обычно намного толще ее. Она состоит из плотной неравномерной соединительной ткани и получила свое название из-за плотной концентрации коллагеновых, эластичных и ретикулярных волокон, сплетенных на всем ее протяжении. Эти белковые волокна придают дерме свойства прочности, расширяемости и эластичности. Кроме того, в сетчатой области находятся корни волос, сальные железы, потовые железы, рецепторы, ногти и кровеносные сосуды. Чернила татуировок удерживаются в дерме. Растяжки, возникающие при беременности, также располагаются в дерме.

Гиподерма лежит ниже дермы. Ее назначение - прикреплять дермальную область кожи к нижележащим костям и мышцам, а также снабжать ее кровеносными сосудами и нервами. Она состоит из рыхлой соединительной ткани и эластина. Основные типы клеток представляют собой фибробласты, макрофаги и адипоциты (гиподерма содержит 50% жира организма). Жир служит в качестве прослойки и для изоляции организма.

В одном из аспектов указанного варианта реализации гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, вводят в дермальную или гиподермальную область кожи индивида путем инъекции. В аспектах указанного варианта реализации гидрогелевую композицию, описанную в настоящем документе, вводят в дермальную область индивида путем инъекции в, например, область эпидермально-дермального соединения, сосочковую область, сетчатую область или любую их комбинацию.

Некоторые из настоящих композиций особенно полезны и эффективны для сглаживания внешнего вида мелких морщин, например, в областях тонкой кожи пациента. Например, представлены способы лечения мелких морщин, включающие этапы введения пациенту композиции кожного наполнителя, описанной в настоящем документе, на глубину не более приблизительно 1 мм.

В Других аспектах настоящего документа предложен, в частности, способ лечения состояния кожи, включающий этап введения индивиду, страдающему состоянием кожи, гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, причем введение композиции улучшает состояние кожи, за счет чего происходит лечение состояния кожи. В одном из аспектов указанного варианта реализации состояние кожи представляет собой способ лечения обезвоживания кожи, включающий этап введения индивиду, страдающему обезвоживанием кожи, гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, причем введение композиции регидратирует кожу, за счет чего происходит лечение обезвоживания кожи. В еще одном аспекте указанного варианта реализации способ лечения недостаточной эластичности кожи включает этап введения индивиду, страдающему недостаточной эластичностью кожи, гидрогелевой композиции, описанной

в настоящем документе, причем введение композиции повышает эластичность кожи, за счет чего происходит лечение недостаточной эластичности кожи. В еще одном аспекте указанного варианта реализации способ лечения огрубления кожи включает этап введения индивиду, страдающему огрублением кожи, гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, причем введение композиции снижает огрубление кожи, за счет чего происходит лечение огрубления кожи. В еще одном аспекте указанного варианта реализации способ лечения недостаточного натяжения кожи включает этап введения индивиду, страдающему недостаточным натяжением кожи, гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, причем введение композиции повышает натяжение кожи, за счет чего происходит лечение недостаточного натяжения кожи.

В дополнительном аспекте указанного варианта реализации способ лечения кожных растяжек включает этап введения индивиду, страдающему кожными растяжками, гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, причем введение композиции ослабляет или устраняет кожные растяжки, за счет чего происходит лечение кожных растяжек. В еще одном аспекте указанного варианта реализации способ лечения бледности кожи включает этап введения индивиду, страдающему бледностью кожи, гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, причем введение композиции усиливает оттенок или блеск кожи, за счет чего происходит лечение бледности кожи. В еще одном аспекте указанного варианта реализации способ лечения кожных морщин включает этап введения индивиду, страдающему кожными морщинами, гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, причем введение композиции уменьшает или устраняет кожные морщины, благодаря чему происходит лечение кожных морщин. В еще одном аспекте указанного варианта реализации способ лечения кожных морщин включает этап введения индивиду гидрогелевой композиции, описанной в настоящем документе, причем введение композиции придает коже устойчивость к кожным морщинам, за счет чего происходит лечение кожных морщин.

В некоторых вариантах реализации кожные наполнители обладают долговременной биодоступностью. Например, представлены кожные наполнители, которые при введении в кожу человека (например, при внутривенном или субдермальном введении человеку для коррекции дефектов мягких тканей - пор лица) высвобождают аскорбиновую кислоту (или другой витамин) в организм человека в течение по меньшей мере приблизительно 1 месяца и до приблизительно 20 месяцев или более.

Например, для прогнозирования эффективности витамина С замедленного высвобождения, согласованной с продолжительностью действия наполнителя, выполнили оценку степени конъюгирования. Эта оценка была основана на составе AA2G, конъюгированного с ГК путем этерификации. Состав стабилен в физиологических условиях, однако начинает высвобождать аскорбиновую кислоту (АК) посредством α -глюкозидазы при прикреплении к клеточной мембране. Высвобождение АК происходит на границе раздела наполнитель/клетка ввиду того, что α -глюкозидаза связана с клеточной мембраной. Последующее высвобождение АК из ТК-AA2G будет сопровождаться разрушением ГК, что делает AA2G доступным для фибробластов. Таким образом, высвобождение АК зависит от степени конъюгирования AA2G и продолжительности существования ГК. Гель со степенью конъюгирования 5 мол.% приблизительно может высвобождать активный витамин С по меньшей мере до 1 месяца, например, в течение 3~5 месяцев; гель со степенью конъюгирования 10 мол.% может высвобождать активный витамин С до 6~8 месяцев; гель со степенью конъюгирования 15 мол.% может высвобождать активный витамин С до 10~ месяцев;

30 мол.% - до полутора лет.

Степень конъюгирования (мол.%)	Общее количество доступной АК* (мМ)	Расчетное количество (месяцев)**
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

* На основе параметров гелей: объем, 0,1 см³; концентрация, 24 мг/мл. $(0,1 \times 24 \times 3\% \times 1000) / (338 \times 0,1) = 2,13$ (мМ)

**Допущения:

АК высвобождается с постоянной скоростью.

Эффективная концентрация АК составляет 0,05 мМ и поддерживается на эффективном уровне $> 2 \text{ days } 2,13 \times 2 / (0,05 \times 30) = 2,8$ (месяцев)

В одном варианте реализации изобретения кожный наполнитель, содержащий гиалуроновую кислоту, сшитую с Star-ПЭГ-эпоксидом, и содержащий производное витамина С (например, один из AA2G (2-глюкозид аскорбиновой кислоты), Vitagen (3-аминопропил-L-аскорбил-фосфат) и SAP (аскорбилфосфат натрия) конъюгируют с гиалуроновой кислотой со степенью конъюгирования от приблизительно 3 мол.% до приблизительно 40 мол.%.

Способы получения указанного кожного наполнителя включают реакцию глицидного эфира пентаэритрита (Star-ПЭГ-эпоксида) с 2-глюкозидом аскорбиновой кислоты (AA2G) при соотношении, температуре реакции и времени реакции, подходящих для получения композиции, содержащей AA2G, несущий концевые 4-плечие эпоксиды (AA2C-4-плечие эпоксиды), непрореагировавшие 4-плечие эпоксиды и свободный AA2G. AA2G, несущий концевые 4-плечие эпоксиды (AA2C-4-плечие эпоксиды) конъюгируют с гиалуроновой кислотой через эпоксильные группы. Непрореагировавшие 4-плечие эпоксиды служат в качестве сшивающего агента для сшивки гиалуроновой кислоты и в качестве конъюгирующего агента для дальнейшего конъюгирования AA2G.

Согласно еще одному варианту реализации изобретения предложен кожный наполнитель, содержащий гиалуроновую кислоту, сшитую с BDDE, и содержащий производное витамина С (например, один из AA2G (2-глюкозид аскорбиновой кислоты), Vitagen (3-аминопропил-L аскорбил-фосфат) и SAP (аскорбилфосфат натрия) конъюгируют с гиалуроновой кислотой со степенью конъюгирования от приблизительно 3 мол.% до приблизительно 10 мол.%.

Способы получения указанного кожного наполнителя включают реакцию BDDE с 2-глюкозидом аскорбиновой кислоты (AA2G) при соотношении, температуре реакции и времени реакции, подходящих для получения композиции, содержащей AA2G, несущий концевые BDDE (AA2G-BDDE), непрореагировавшие BDDE и свободный AA2G. AA2G несущий концевые BDDE (AA2G-BDDE) конъюгируют с гиалуроновой кислотой через

эпоксильные группы. Непрореагировавшие BDDE служат в качестве сшивающего агента для сшивки гиалуроновой кислоты и в качестве конъюгирующего агента для дальнейшего конъюгирования AA2G.

5 Фигура 9 является таблицей, в которой показано влияние концентрации α -гликозидазы на высвобождение АК из раствора AA2G-PBS. Преобразование AA2G в АК зависит от концентрации α -гликозидазы. AA2G почти полностью преобразуется в АК в течение 15 минут при концентрации α -гликозидазы 6,3 единицы на грамм геля. Если концентрация α -гликозидазы составляет 4,7 единицы на грамм геля, полное преобразование AA2G в АК занимает 30 минут. Дальнейшее снижение концентрации α -гликозидазы приводит к медленному преобразованию AA2G в АК.

10 Фигура 10 является графическим представлением профиля высвобождения свободной АК из конъюгированных кожных наполнителей в соответствии с изобретением (с замедленным высвобождением) (преобразования AA2G в мол.% в зависимости от времени реакции). AA2G полностью преобразуется в АК в смеси AA2G/ГК в течение 15 40 минут. Для конъюгатов AA2H/ГК показана временная зависимость преобразования AA2G в АК.

На Фигурах 11А и 11В показаны дополнительные данные по высвобождению для различных кожных наполнителей в соответствии с изобретением. Конкретнее, преобразование AA2G в АК в гелях ТК-AA2G зависит от концентрации α -гликозидазы. 20 Высокая концентрация α -гликозидазы приводит к быстрому преобразованию AA2G в АК. При данной концентрации α -гликозидазы различные составы демонстрируют различные профили преобразования AA2G в АК.

В одном аспекте настоящего изобретения представлены кожные наполнители, особенно эффективные при лечении и устраняющие внешние проявления мелких морщин, 25 например, относительно поверхностных складок кожи, например, не ограничиваясь этим, мелких морщин вблизи глаз, в области слезной борозды, лба, периорбитальной области, межбровных морщин и т.д.

Появление посиневшего участка кожи в месте инъекции кожного наполнителя (эффект Тиндаля) является важным нежелательным явлением у некоторых пациентов, 30 получавших лечение кожным наполнителем. Эффект Тиндаля более распространен среди пациентов, получавших лечение поверхностных мелких морщин. Разработаны варианты реализации настоящего изобретения, обеспечивающие полупрозрачные наполнители длительного действия, которые можно поверхностно вводить для лечения мелких морщин даже в области с относительно тонкой кожей без посинения, 35 обусловленного эффектом Тиндаля. Под мелкими или поверхностными морщинами, как правило, понимают морщины или складки на коже, которые обычно находятся в областях лица (лба, внешнего бокового угла глазной щели, красной каймы/периоральных морщин) с наиболее тонкой кожей, т.е. в областях с толщиной дермы менее 1 мм. Средняя толщина дермы на лбу составляет приблизительно 0,95 мм для 40 нормальной кожи и приблизительно 0,81 мм для морщинистой кожи. Дерма вокруг внешнего бокового угла глазной щели еще тоньше (приблизительно 0,61 мм для нормальной кожи и приблизительно 0,41 мм для морщинистой кожи). Средний наружный диаметр иглы 30 или 32 калибра (иглы, которые обычно используются для введения геля в мелкие морщины) составляет приблизительно 0,30 и приблизительно 0,24 мм.

45 Согласно настоящему изобретению предложена композиция кожного наполнителя, например, описанная в настоящем документе, которая не приводит к эффекту Тиндаля. Например, композиции согласно настоящему изобретению содержат компонент на основе гиалуроновой кислоты, перекрестно сшитой сшивающим компонентом, добавку,

отличную от указанного сшивающего агента; композиция характеризуется сниженным эффектом Тиндаля при введении в дерму пациента по сравнению с по существу идентичной композицией, не содержащей добавки. Композиция может быть по существу оптически прозрачной.

5 В одном варианте реализации добавка является производным витамина С, например, AA2G, который можно химически конъюгировать с гиалуроновой кислотой, как описано в настоящем документе.

В некоторых вариантах реализации сшивающий компонент представляет собой BDDE, а степень конъюгирования составляет от приблизительно 3 мол.% до
10 приблизительно 10 мол.%, или до 15 мол.% или выше. В некоторых вариантах реализации композиция дополнительно содержит анестетик, например, лидокаин в количестве, подходящем для обеспечения комфорта пациента при инъекции.

Кроме того, согласно настоящему изобретению предложены способы лечения мелких морщин на коже пациента. Указанные способы обычно включают этапы введения в
15 кожу пациента композиции, например, описанной в настоящем документе. Например, композиции содержат смесь компонента гиалуроновой кислоты, компонента, сшивающего гиалуроновую кислоту, и добавки, отличной от указанного сшивающего компонента, причем указанная композиция является по существу оптически прозрачной, и композиция кожного наполнителя характеризуется сниженным эффектом Тиндаля
20 по сравнению с по существу идентичной композицией, не содержащей добавки.

В некоторых вариантах реализации изобретения композиция содержит компонент на основе гиалуроновой кислоты, перекрестно сшитой ди- или полиаминным сшивающим агентом с помощью химических реакций на основе EDC; Например, сшивающий агент может представлять собой ГМДА.

25 В некоторых вариантах реализации изобретения, где сшивающий агент представляет собой ГМДА, композиция характеризуется G' до приблизительно 70 Па, G''/G' между приблизительно 0,65 и приблизительно 0,75, усилием выдавливания приблизительно 24 Н или менее и конечной концентрацией ГК от приблизительно 24 мг/г до приблизительно 25 мг/г.

30 В некоторых вариантах реализации изобретения, где добавка представляет собой конъюгат ТК-AA2G или конъюгат ГК-Vitagen, степень конъюгирования составляет от приблизительно 3 мол.% до приблизительно 10 мол.%, или до 15 мол.%, или до приблизительно 40 мол.%. Указанные композиции могут характеризоваться G' от приблизительно 30 Па, более предпочтительно - приблизительно 40 Па до
35 приблизительно 100 Па, G''/G' между приблизительно 0,30 и приблизительно 0,50, усилием выдавливания приблизительно 27 Н или менее и конечной концентрацией ГК от приблизительно 24 мг/г до приблизительно 25 мг/г.

Для целей настоящего изобретения термин “степень конъюгирования”, используемый в настоящем документе, определяется как молярное процентное содержание конъюганта,
40 например, AA2G, по сравнению с повторяющимся звеном гиалуроновой кислоты (например, ГК-димером). Таким образом, 10 мол.% степень конъюгирования означает, что каждые 100 повторяющихся звеньев ГК содержат 10 конъюгированных AA2G. Степень конъюгирования можно рассчитать с помощью способа, описанного в Примере 2 ниже, или других способов, известных специалистам в данной области техники.

45 ПРИМЕРЫ

Пример 1: Конъюгирование AA2G со сшитым гелем ГК с использованием BBDE в качестве сшивающего агента
400,6 мг гиалуроновой кислоты с низкой молекулярной массой (НМ ГК)

гидратировали в 1802 мг 1 мас.% NaOH в шприце в течение - 30 мин. 800,7 мг AA2G, а затем 713,7 мг BDDE и 1416,8 мг 10% NaOH помещали во флакон. Вышеупомянутый раствор ($\text{pH} > 12$) оставляли реагировать на водяной бане при 50°C в течение ~20 мин, после чего добавляли гидратированную ГК. После добавления смесь перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Смешанную пасту помещали во флакон и на водяную баню при 50°C на ~2,5 часа. 223,5 мг 12М HCl добавляли к 9,05 г PBS, pH 7,4. Через ~2,5 часа образовывался гель ГК-AA2C. Гель нарезали на куски и добавляли к нему раствор HCl-PBS. Гель оставляли для нейтрализации и набухания на ночь на орбитальном шейкере. Гель разделяли по размеру с помощью - 60-мкм сита и перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Гель помещали в пакет для диализа 15000 MWCO RC и диализовали в PBS-буфере при pH 7,4. Диализ продолжали в течение ~185 часов при частой смене PBS-буфера. После диализа гель помещали в шприц и хранили в холодильнике при 4°C .

Пример 2: Определение конъюгирования AA2G

Массу геля, описанного в Примере 1, регистрировали непосредственно перед диализом и после диализа. Предположили, что после диализа плотность геля составляла ~1 г/мл. Диализ останавливали, когда в течение >8 часов не отмечался выход AA2G в 1 л PBS. AA2G измеряли при 260 нм с использованием УФ/ВИД-спектрофотометра (Nanodrop 2000C, ThermoScientific). Калибровочную кривую AA2G рассчитывали с использованием различных концентраций AA2G в 2% ГК ($A@260 \text{ нм} = 1,4838 [\text{AA2G (мМ)}]$).

Масса ГК после диализа: исходная масса ГК $\times$ (фактическая масса до диализа / теоретическая масса)

Количество (ммоль) AA2G после диализа: подставляли поглощение при @260 нм после диализа в уравнение ($A@260 \text{ нм} = 1,4838 [\text{AA2G (мМ)}]$).

Конъюгирование @AA2G: (ммоль AA2C/ммоль ГК) $\times 100\%$.

Степень конъюгирования AA2G в геле, как описано в Примере 1, составляла 14,7 мол.%.

Пример 3: Определение реологических свойств геля

Для измерения свойств геля, полученного в примере 1, использовали колебательный реометр с плоскопараллельным зазором (Anton Paar, Physica MCR 301). Диаметр используемой пластины составлял 25 мм. Зазор между пластинами устанавливали на 1 мм. При каждом измерении вначале использовали меняющуюся частоту при постоянной деформации, а затем меняющуюся деформацию при фиксированной частоте. G' (динамический модуль упругости) получали из кривой развертки деформации при 1% деформации. Значение для указанного геля составило 1450 Па.

Пример 4: Конъюгирование AA2G с гелями сшитой ГК с использованием BDDE в качестве сшивающего агента, с настраиваемой степенью конъюгирования и реологическими свойствами геля

Процедура была аналогична процедуре, описанной в Примере 1. Степень конъюгирования меняли путем настройки мольных соотношений сшивающего агента по сравнению с ГК и AA2G. Свойства геля измеряли, как описано в Примере 3. Подробности приведены ниже:

400,8 мг HM ГК гидратировали в 1752,1 мг 1% NaOH в шприце в течение ~30 мин. 800,3 мг AA2G, а затем 354,1 мг BDDE и 1402,0 мг 10% NaOH помещали во флакон. Вышеупомянутый раствор ($\text{pH} > 12$) оставляли реагировать на водяной бане при 50°C в течение ~20 мин, после чего добавляли гидратированную ГК. После добавления смесь перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Смешанную

пасту помещали во флакон и на водяную баню при 50°C на ~2,5 часа. 140,9 мг 12М HCl добавляли к 9,0053 г PBS, pH 7,4. Через ~2,5 часа образовывался гель ТК-AA2G. Гель нарезали на куски и добавляли к нему раствор HCl-PBS. Гель оставляли для нейтрализации и набухания на ночь на орбитальном шейкере. Гель разделяли по размеру с помощью ~60-мкм сита и перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Гель помещали в пакет для диализа 15000 MWCO RC и диализовали в PBS-буфере при pH 7,4. Диализ продолжали в течение ~164,5 часов при частой смене PBS-буфера. После диализа гель помещали в шприц и хранили в холодильнике при 4°C. Степень конъюгирования составила 13%. Динамический модуль упругости геля (G') составил 803 Па.

Пример 5: Конъюгирование AA2G с гелями сшитой ГК с использованием BDDE в качестве сшивающего агента, при степени конъюгирования 5.3% и G' ~300 Па.

400,3 мг НМ ГК гидратировали в 3002,0 мг 1% NaOH в шприце в течение ~30 мин. 800,5 мг AA2G, а затем 264,3 мг BDDE и 1100,0 мг 10% NaOH помещали во флакон. Вышеупомянутый раствор (pH>12) оставляли реагировать на водяной бане при 50°C в течение ~20 мин, после чего добавляли гидратированную ГК. После добавления смесь перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Смешанную пасту помещали во флакон и на водяную баню при 50°C на ~2,5 часа. 104,2 мг 12М HCl добавляли к 8,5128 г PBS, pH 7,4. Через ~2,5 часа образовывался гель ТК-AA2G, к которому добавляли раствор HCl-PBS. Гель оставляли для нейтрализации и набухания на выходные (~55 часов) на орбитальном шейкере. Гель разделяли по размеру с помощью ~60-мкм сита и перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Гель помещали в пакет для диализа 15000 MWCO RC и диализовали в PBS-буфере при pH 7,4. Диализ продолжали в течение ~114 часов при частой смене PBS-буфера. После диализа гель помещали в шприц и хранили в холодильнике при 4°C. Степень конъюгирования и реологические свойства геля измеряли в ходе процедуры, описанной в Примере 2 и 3. Степень конъюгирования составила 5,3%. Динамический модуль упругости геля (G') составил ~300 Па.

Пример 6: Конъюгирование AA2G с гелями сшитой ГК с использованием star-ПЭГ-эпоксида в качестве сшивающего агента, при степени конъюгирования 29.4% и G' ~235 Па.

200,4 мг НМ ГК гидратировали в 2000 мг 1% NaOH в шприце в течение ~30 мин. 400 мг AA2G, а затем 312,7 мг star-ПЭГ-эпоксида и 1026,5 мг 10% NaOH помещали во флакон. Вышеупомянутый раствор оставляли реагировать на водяной бане при 50°C в течение ~20 мин, после чего добавляли гидратированную ГК. После добавления смесь перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Смешанную пасту помещали во флакон и на водяную баню при 50°C на ~2,5 часа. 187,4 мг 12М HCl добавляли к 3,034 г PBS, pH 7,4. Через ~2,5 часа образовывался гель ГК-AA2G, к которому добавляли раствор HCl-PBS. Гель оставляли для нейтрализации и набухания на выходные (~68 часов) на орбитальном шейкере. Гель разделяли по размеру с помощью ~60-мкм сита и перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Гель помещали в пакет для диализа 15000 MWCO RC и диализовали в PBS-буфере при pH 7,4. Диализ продолжали в течение ~95 часов при частой смене PBS-буфера. После диализа гель помещали в шприц и хранили в холодильнике при 4°C. Степень конъюгирования и реологические свойства геля измеряли в ходе процедуры, описанной в Примерах 2 и 3. Степень конъюгирования составила 29,4%. Динамический модуль упругости геля (G') составил ~235 Па.

Пример 7: Конъюгирование AA2G с гелями сшитой ГК с использованием star-ПЭГ-

эпоксиды в качестве сшивающего агента, при степени конъюгирования 27,8% и $G' \sim 363$ Па.

200,3 мг НМ ГК гидратировали в 2000 мг 1% NaOH в шприце в течение ~30 мин. 400,2 мг AA2G, а затем 313,4 мг star-ПЭГ-эпоксиды и 1022,6 мг 10% NaOH помещали во флакон. 5 Вышеупомянутый раствор добавляли к гидратированной ГК. После добавления смесь перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Смешанную пасту помещали во флакон и на водяную баню при 50°C на ~2,5 часа. 196,5 мг 12М HCl добавляли к 3,016 г PBS, pH 7,4. Через ~2,5 часа образовывался гель ТК-AA2G, к 10 которому добавляли раствор HCl-PBS. Гель оставляли для нейтрализации и набухания на ночь (~24 часа) на орбитальном шейкере. Гель разделяли по размеру с помощью ~60-мкм сита и перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Гель помещали в пакет для диализа 15000 MWCO RC и диализовали в PBS-буфере при pH 7,4. Диализ продолжали в течение - 98,5 часов при частой смене PBS-буфера. После диализа гель помещали в шприц и хранили в холодильнике при 4°C. Степень 15 конъюгирования и реологические свойства геля измеряли в ходе процедуры, описанной в Примерах 2 и 3. Степень конъюгирования составила 27,8%. Динамический модуль упругости геля (G') составил ~363 Па.

Пример 8: Конъюгирование AA2G с гелями сшитой ВМ ГК с использованием BDDE в качестве сшивающего агента, при степени конъюгирования приблизительно 10 мол.% 20 и G' приблизительно 240 Па.

400,3 мг ВМ ГК гидратировали в 2501,3 мг 4 мас.% NaOH в шприце в течение ~30 мин. 1200 мг AA2G, а затем 304,7 мг BDDE и 1178,6 мг 16 мас.% NaOH помещали во флакон. Вышеупомянутый раствор (pH>12) оставляли реагировать на водяной бане при 50°C в течение ~20 мин и переносили в 20-см³ шприц, после чего добавляли 25 гидратированную ГК. После добавления смесь перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Смешанную пасту помещали в 20-см³ флакон и на водяную баню при 50°C на ~2,5 часа. Через ~2,5 часа образовывался гель ТК-AA2G. Затем к 8492,2 мг 10X PBS, pH 7,4 добавляли 226,6 мг 12 М HCl для получения раствора 30 HCl-PBS, и раствор HCl-PBS добавляли для нейтрализации и набухания геля. Гель оставляли для нейтрализации и набухания на 48 ч на орбитальном шейкере. Гель разделяли по размеру с помощью ~60-мкм сита и перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Гель помещали в пакет для диализа 20000 MWCO SE и диализовали в PBS-буфере при pH 7,4. Диализ продолжали в течение ~114 часов 35 при частой смене PBS-буфера. После диализа гель помещали в шприц и хранили в холодильнике при 4°C. Степень конъюгирования и реологические свойства геля измеряли в ходе процедуры, описанной в Примерах 2 и 3. Степень конъюгирования составила 10 мол.%. Динамический модуль упругости геля (G') составил приблизительно 240 Па.

Пример 9: Конъюгирование Vitagen с гелями сшитой НМ ГК с использованием BDDE в качестве сшивающего агента, при степени конъюгирования 15 мол.% и G' 40 приблизительно 365 Па.

398,2 мг НМ ГК гидратировали в 1753,24 мг 1 мас.% NaOH в шприце в течение ~40 мин. К набухшей ГК добавляли BDDE (311,7 мг) и продолжали набухание ГК в течение дополнительных 80 мин. Смесь набухшей ГК/BDDE подвергали предварительной 45 реакции при 50°C в течение 20 мин.

801,9 мг Vitagen отдельно растворяли в 1459,7 мг 10 мас.% NaOH и смешивали с ГК, предварительно взаимодействовавшей с BDDE. Смесь продолжала взаимодействовать при 50°C в течение дополнительных 2,5 ч. Через ~2,5 часа образовывался гель ГК-Vitagen. Затем к 9004,0 мг 10X PBS, pH 7,4 добавляли 195 мг 12 М HCl для получения

раствора HCl-PBS, и раствор HCl-PBS добавляли для нейтрализации и набухания геля. Гель оставляли для нейтрализации и набухания на 48 ч на орбитальном шейкере. Гель разделяли по размеру с помощью ~60-мкм сита и перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Гель помещали в пакет для диализа 20000 MWCO
 5 CE и диализовали в PBS-буфере при pH 7,4. Диализ продолжали в течение ~120 часов при частой смене PBS-буфера. После диализа гель помещали в шприц и хранили в холодильнике при 4°C. Реологические свойства геля измеряли в ходе процедуры, описанной в Примере 3. С помощью способа, аналогичного определению AA2G, описанному в Примере 2, определили, что степень конъюгирования составила
 10 приблизительно 15 мол.%. Динамический модуль упругости геля (G') составил приблизительно 365 Па.

Пример 10: Конъюгирование Vitagen с линейной ГК с помощью реакций амидизации

200.3 мг ВМ ГК гидратировали в 10 мл воды в 60-см³ шприце. 500 мг Vitagen растворяли в 0,5 мл воды и нейтрализовали раствор до pH 4,8. 197,7 мг EDC и 149 мг
 15 NHS отдельно растворяли в 6 мл воды. Вышеупомянутые растворы (растворы и растворы EDC/NHS) вносили в другой 60-см³ шприц, содержащий 23,5 мл воды. Указанные два шприца перемешивали 20 раз, перенося раствор из одного шприца в другой и обратно. Смеси хранили в одном шприце и вымачивали на водяной бане при
 20 37°C в течение 4 ч. Наконец, растворы диализовали против PBS-буфера, pH 7,4 до исчезновения Vitagen. Степень конъюгирования определяли с помощью способа, аналогичного способу, описанному в Примере 3. Степень конъюгирования составила приблизительно 10 мол.%.

Пример 11: Конъюгирование AA2P с гелями сшитой ГК

200.4 мг НМ ГК гидратировали в 1000 мг MES-буфера (pH 5,2) в шприце в течение
 25 ~30 мин. 292 мг AA2P помещали во флакон, а затем добавляли 300 мг star-ПЭГ-амин. Вышеупомянутый раствор оставляли взаимодействовать при комнатной температуре на ночь. Гель гидратировали PBS-буфером и диализовали против PBS-буфера для удаления непрореагировавшего AA2P. Характеристики конечного геля оценивали, как
 30 описано в Примерах 2 и 3, определяя степень конъюгирования и реологические свойства геля. Степень конъюгирования составила приблизительно 20 мол.%. Динамический модуль упругости (C) составил приблизительно 500 Па.

Пример 12

Приготовление продукта - кожного наполнителя ГК/BDDE с AA2G для уменьшения
 35 внешних проявлений мелких морщин

В любой из гелей, описанных в приведенных выше примерах, после диализа можно добавить подходящее количество геля свободной ГК для улучшения или изменения сцепляемости и/или возможности введения путем инъекции. Например, волокна свободной ГК пропитывали фосфатным буферным раствором с целью получения
 40 однородного вязкоупругого геля (гель "свободной" ГК). Этот несшитый гель добавляли перед этапом диализа к сшитому гелю ГК/BDDE, полученному в Примере 1 (например, для получения композиции, содержащей от приблизительно 1% до приблизительно 5% (масс/масс.) свободной ГК). Затем полученным гелем заполняли готовые к наполнению стерильные шприцы и автоклавируют их при температуре и давлении, достаточных
 45 для стерилизации, в течение по меньшей мере приблизительно 1 минуты. После автоклавирования конечный продукт ТК/AA2G упаковывали и распространяли среди врачей для использования в качестве кожного наполнителя для поверхностных инъекций для улучшения внешних проявлений морщин в периорбитальной или другой области лица.

Пример 13

Приготовление кожного наполнителя ТК-АА2G, содержащего лидокаин

Следовали процедуре, описанной в Примере 12, но после этапа диализа и перед добавлением геля свободной ГК к смеси добавляли лидокаина гидрохлорид (лидокаин-
 5 HCl). Лидокаин-HCl в виде порошка вначале можно солюбилизировать в WFI и фильтровать через 0,2-мкм фильтр. К гелю ТК/АА2G с высокой сцепляемостью добавляли разбавленный раствор NaOH, достигая слегка щелочного pH (например, pH от приблизительно 7,5 до приблизительно 8). Затем к слегка щелочному гелю добавляли раствор лидокаина-HCl достигая конечной желательной концентрации,
 10 например, концентрации приблизительно 0,3% (масс/масс). Конечный pH смеси ГК/АА2G/лидокаин составлял приблизительно 7, а концентрация ГК составляла приблизительно 24 мг/г. С целью получения надлежащей однородности выполняли механическое перемешивание в стандартном реакторе, оснащенном соответствующим смесителем.

Пример 14

Конъюгирование добавок, содержащих карбоксильные функциональные группы, с гидрогелями ГК

Такие добавки, как ретиноевая кислота (или третиноин), адапален и альфа-липовая кислота, содержат карбоксильную функциональную группу (-COOH). Эти добавки
 20 конъюгировали с гидрогелями ГК путем эстерификации с помощью реакций на основе EDC. Пример конъюгирования в соответствии с вариантом реализации изобретения описывается следующим образом:

200 мг ВМ ГК гидратировали в 10 мл MES-буфера (pH 4,8) в 60-см³ шприце. В другом
 25 шприце 200 мг ретиноевой кислоты растворяли в 5 мл смеси вода-ацетон (объемное соотношение вода/ацетон 1:3). Вышеуказанные два шприца смешивали посредством шприцевого разъема приблизительно 20 раз. Затем 197,7 мг EDC и 149 мг NHS отдельно растворяли в 6 мл воды в отдельном шприце. Шприц, содержащий EDC и NHS,
 30 подсоединяли к шприцу, содержавшему ГК и ретиноевую кислоту, для смешивания реактивов по меньшей мере 20 раз путем переноса из одного шприца в другой и обратно. Смеси хранили в одном шприце и вымачивали на водяной бане при 37°C в течение 4 ч. Гели диализовали против изопропанола для удаления неконъюгированной ретиноевой кислоты, а затем диализовали против PBS-буфера в асептических условиях. Гели упаковывали в стерильные шприцы и хранили при 4°C.

Пример 15

Конъюгирование добавок, содержащих гидроксильные функциональные группы, с гидрогелями ГК

Такие добавки, как ретинол (или третиноин), каталаза, диметиламиноэтанол и g-токоферол, содержат гидроксильную функциональную группу (-OH). Эти добавки
 40 конъюгировали с гидрогелями ГК путем эстерификации с помощью реакций на основе EDO. Типичный пример конъюгирования описывается следующим образом:

200 мг ВМ ГК гидратировали в 10 мл буфера 2-(N-морфолин)этансульфоновой
 кислоты (MES) (pH 4,8) в 60-см³ шприце. В другом шприце 200 мг ретинола растворяли в 5 мл смеси вода-ацетон (объемное соотношение вода/ацетон 1:3). Вышеуказанные
 45 два шприца смешивали посредством шприцевого разъема приблизительно 20 раз. Затем 197,7 мг EDC и 149 мг NHS отдельно растворяли в 6 мл воды в отдельном шприце. Шприц, содержащий EDC и NHS, подсоединяли к шприцу, содержавшему ГК и ретинол, для смешивания реактивов по меньшей мере 20 раз путем переноса из одного шприца в другой и обратно. Смеси хранили в одном шприце и вымачивали на водяной бане

при 37°C в течение 4 ч. Гели диализовали против изопропанола для удаления неконъюгированного ретинола, а затем диализовали против PBS-буфера в асептических условиях. Гели упаковывали в стерильные шприцы и хранили при 4°C.

Пример 16

5 Конъюгирование добавок, содержащих гидроксильные функциональные группы, с гидрогелями ГК путем последующих модификаций.

Это двустадийный процесс.

Этап 1: Гель сшитой ГК, например, доступный для приобретения кожный наполнитель на основе ГК, например, JUVEDERM[®], Allergan, Ирвин, штат Калифорния, США, или 10 Restylane[®] Medicis Aesthetics, Inc., обрабатывали EDC/NHS для активации карбоксильной группы ГК.

Этап 2: активированный гидрогель НА обрабатывали добавками, содержащими гидроксильные группы. Добавки, содержащие гидроксильные группы, представляют собой гидроксильную функциональную группу (-ОН) ретинола (или третиноина), 15 каталазы, диметиламиноэтанола и g-токоферола.

Типичный пример конъюгирования добавок с гелями сшитой ГК представляет собой следующее:

2 мг геля Ювидерм смешивали с 200 мг EDC и 150 мг NHS при комнатной температуре. 20 Затем добавляли 200 мг ретинола в 3 мл смеси ацетон-вода. Вышеуказанная смесь взаимодействовала при 37°C в течение 4 ч. Гели диализовали против изопропанола для удаления неконъюгированного ретинола, а затем диализовали против PBS-буфера в асептических условиях. Гели упаковывали в стерильные шприцы и хранили при 4°C.

Пример 17

25 Конъюгирование Факторов роста, пептидов или эластина с гидрогелями ГК
Такие добавки, как эпидермальный фактор роста (ЭФР), трансформирующий фактор роста (ТФР) и пептиды, содержат функциональные аминокислоты, которые можно конъюгировать с ГК, образуя кожные наполнители с выгодными свойствами. Эти добавки конъюгировали с гидрогелями ГК с помощью реакций амидизации. Типичный 30 пример конъюгирования описывается следующим образом:

200,3 мг ВМ ГК гидратировали в 10 мл водного MES-буфера (pH 5,4). Добавляли 20 мг ЭФР в 100 мг раствора MES. К вышеуказанной смеси добавляли 197,7 мг EDC и 149 мг. Полученную реакционную смесь оставляли взаимодействовать при 37°C в течение 4 ч. После завершения реакции гели дополнительно диализовали против изопропанола, 35 а затем против PBS-буфера в асептических условиях. Гели упаковывали в стерильные шприцы и хранили при 4°C.

Согласно настоящему изобретению также предложены способы повышения жизнеспособности трансплантированной жировой ткани. Указанные способы обычно могут включать этапы введения композиции в кожу пациента вблизи 40 трансплантированной жировой ткани, причем указанная композиция является композицией, описанной в настоящем документе. Например, композиция может включать гиалуроновую кислоту и производное витамина С, ковалентно конъюгированное с гиалуроновой кислотой, причем степень конъюгирования составляет от приблизительно 3 мол.% до приблизительно 40 мол.%. В других аспектах настоящего 45 изобретения способы лечения кожи включают этапы введения в кожу композиции, содержащей жировую ткань, гиалуроновую кислоту и витамин С, конъюгированный с гиалуроновой кислотой.

Пример 18

Конъюгирование Факторов роста, пептидов или эластина с гидрогелями ГК

Для оценки митогенных эффектов витамина С и его производных на стволовые клетки, происходящие из жировой ткани человека (hASC), hASC культивировали в пластмассовых сосудах для тканевых культур в течение 4 суток в полной среде MesenPro (Invitrogen, Карлсбад, штат Калифорния, США) с добавлением или без добавления

5 витамина С (аскорбиновой кислоты) или его производных (Vitagen или AA2G) в свободной форме. Пролиферацию оценивали путем анализа МТТ, как описано изготовителем (АТСС, Манассас, штат Виргиния, США). Через 4 дня обнаружили, что концентрации аскорбиновой кислоты 0,25, 0,5 и 1 мМ усиливали пролиферацию (согласно измерению количественного преобразования желтого тетразолиевого МТТ в

10 фиолетовый формазан дегидрогеназными ферментами (фиолетовый формазан солюбилизировали детергентом) на 60%, 80% и 96% по сравнению с контролем, не содержащим аскорбиновой кислоты, соответственно. Использование аналогичных концентраций AA2G привело к усилению пролиферации на 70%, 60% и 50% по сравнению с контролем, соответственно. Аналогичные результаты были получены с Vitagen,

15 продемонстрировав 70%, 60% и 30% усиление по сравнению с контролем, соответственно. Таким образом, витамин С и его производные AA2G и vitagen при наличии среды, содержащей фактор роста, усиливали пролиферацию hASC в культуре клеток.

Гели сшитой ГК с конъюгированным витамином С

20 Получение сшитых гелей на основе ГК с конъюгированным витамином С при использовании диглицидилового эфира 1,4-бутандиола (BDDE) в качестве сшивающего агента в соответствии с некоторыми вариантами реализации изобретения, характеризовавшихся сниженным эффектом Тиндала и другими преимуществами, описано в Примерах 19 и 20 ниже. В Примере 19 производное витамина С являлось 2-

25 глюкозидом аскорбиновой кислоты (AA2G), а в Примере 20 производное витамина С являлось аскорбил-3-аминопропилфосфатом (Vitagen). Указанные гели обладали оптимальными реологическими свойствами, превосходной способностью к введению посредством инъекции и высокой концентрацией ГК (25 мг/г). Без учета какого-либо конкретного теоретического механизма действия, авторы настоящего изобретения

30 обнаружили, что сшивание ГК с BDDE в присутствии AA2G или Vitagen значительно изменяет свойства гелей, причем указанные гели обладали высокой плотностью сшивки, высокой концентрацией ГК, низкой вязкостью и низким усилием выдавливания по сравнению с доступными для приобретения гелями ГК, сшитыми BDDE. Так как AA2G или Vitagen присутствуют во время сшивания, образующиеся гели содержали эти

35 производные аскорбиновой кислоты в связанном состоянии с цепями ГК в качестве как независимых групп, так и сшивающих агентов, соединяющих цепи ГК самостоятельно либо через BDDE. Микроскопическая структура геля значительно изменялась, что приводило к получению гелей с очень низким усилием выдавливания даже через тонкие иглы 30 калибра. Кроме того, гели содержали от приблизительно 3

40 мол.% до приблизительно 10 мол.% или до приблизительно 15 мол.% витамина С, конъюгированного с ГК. При введении гелей посредством инъекции они высвобождали активный витамин С за счет действия эндогенных ферментов, например, α -глюкозидазы фибробластов или фосфатазы. Активный витамин С может вызывать коллагенез кожи и могут действовать в качестве акцептора радикалов, ингибируя разрушение геля.

45 Пример 19

Приготовление геля ТК/AA2G со сниженным эффектом Тиндала

Смесь 400,1 мг НМ ГК и 402,3 мг AA2G в шприце гидратировали в течение 60 мин после добавления 1764,0 мг 5 мас.% раствора NaOH. В отдельный флакон добавляли

800,8 мг AA2G, затем 1401,1 мг 9,1 мас.% раствора NaOH и 252,6 мг BDDE. Полученный раствор ($pH > 12$) оставляли взаимодействовать на водяной бане при $50^{\circ}C$ в течение ~20 мин, после чего переносили в гидратированную ГК. После добавления смесь перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Пасту переносили во флакон, а затем помещали на водяную баню при $50^{\circ}C$ на ~2,5 часа. Для нейтрализации щелочи после сшивания добавляли раствор, содержащий 197,0 мг 12 М HCl и 9,18 г 10 X PBS, pH 7,4, и гель набухал в течение 72 ч на орбитальный шейкер. Гель разделяли по размеру, продавливая его через сетку с размером ячеек ~60 мкм. Отсортированный по размеру гель смешивали ~20 раз, перенося его из одного шприца в другой и обратно, а затем переносили в диализный пакет из эфира целлюлозы с показателем отсечки по молекулярной массе ~20 кДа и диализовали против PBS-буфера (pH 7,4) в течение 5 дней, заменяя буфер два раза в день. После диализа гель распределяли в 1-мл СОС-шприцы, центрифугировали при 5000 об/мин в течение 5 мин для удаления пузырьков воздуха и стерилизовали текучим паром. Гель характеризовался конечной концентрацией ГК 25 мг/г, молярное процентное содержание AA2G, рассчитанное согласно описанию в Примере 2, составляло при 10 мол.%, а G' - приблизительно 80 Па. Другие гели со значениями G' от приблизительно 60 Па до приблизительно 80 Па изготавливали аналогичным образом.

Пример 19А

Приготовление геля ТК/AA2G с лидокаином со сниженным эффектом Тиндала К гелю, описанному в примере 19, добавляли лидокаин для получения геля ГК/AA2G с лидокаином, содержащего 0,3 мас./масс.% лидокаина. Раствор лидокаина получали путем растворения лидокаина-HCl в PBS-буфере pH ~7,4. Аликвоту раствора лидокаина добавляли в гель, описанный в Примере 19, после диализа, но до стерилизации. Затем гель тщательно перемешивали для получения гомогенизированной смеси с концентрацией лидокаина 0,3 мас./масс.%.

Пример 20

Приготовление геля ГК/Vitagen со сниженным эффектом Тиндала 401,0 мг НМ ГК гидратировали в 2355,0 мг 1 мас.% раствора NaOH в шприце в течение ~45 мин. К гидратированной ГК добавляли 303,8 мг BDDE и смешивали 10 раз путем переноса из шприца в шприц. Смесь подвергали предварительному взаимодействию на водяной бане при $50^{\circ}C$ в течение 15 мин. 800,1 мг Vitagen отдельно растворяли в 950,6 мг 15 мас.% NaOH, а затем в 510,1 воды Milli-Q. Раствор Vitagen смешивали с предварительно нагретой смесью гидратированной ГК/BDDE 30 раз путем передачи из шприца в шприц и обратно. Смесь вновь помещали на водяную баню при $50^{\circ}C$ и продолжали реакцию в течение дополнительных 2 ч, после чего добавляли раствор, содержащий 148,1 мг 12 М HCl и 8523,1 мг 10X PBS (pH 7,4) Раствор HCl-PBS добавляли для нейтрализации и набухания геля. Гель оставляли для нейтрализации и набухания на 48 ч на орбитальном шейкере. Гель разделяли по размеру с помощью ~60-мкм сита и перемешивали ~20 раз, перенося из одного шприца в другой и обратно. Гель помещали в пакет для диализа 20000 MWCO CE и диализовали в PBS-буфере при pH 7,4. Диализ продолжали в течение ~197 часов при частой смене PBS-буфера. После диализа гель переносили в 1-мл СОС-шприцы, центрифугировали при 5000 об/мин в течение 5 мин и стерилизовали текучим паром. Конечная концентрация ГК в геле составляла 24 мг/г.

Гели ГК, сшитые путем реакции с 1-этил-3-[3-диметиламинопропил]карбодиимидом гидрохлорида (EDC)

Получение сшитых гелей на основе ГК в соответствии с некоторыми вариантами

реализации изобретения, характеризовавшихся сниженным эффектом Тиндаля и другими преимуществами, описано в Примерах 21 и 22 ниже. В Примере 21 гель получали за счет реакции с EDC, используя сшивающий агент гексаметилендиамин (ГМДА), а в Примере 20 - 3-[3-(3-аминопропокси)-2,2-бис(3-аминопропоксиметил)-пропокси]-пропиламин (4-плечий амин - 4 АА). Сшивку осуществляли в мягких условиях, например, при комнатной температуре и, например, при pH 5,4. Можно настроить условия реакции для получения гелей с развитой сетчатой структурой и оптимальными свойствами, превосходной способностью к введению путем инъекции и высокими конечными концентрациями ГК (~24 мг/г). Авторы изобретения обнаружили возможные преимущества сшивки ГК при очень слабой гидратации или низких концентрациях реагентов, умеренном количестве ГМДА или 4 АА в сочетании со связывающими агентами 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида гидрохлоридом (EDC) и N-гидроксисукцинимидом (NHS) или сульфонил NHS (сульфо-NHS). Указанные гели имели точки сшивки, расположенные далеко друг от друга, и, следовательно, представляли собой материалы с высокой степенью сшивки и высоким значением демпфирующего усилия. Напротив, сшивка ГК с BDDE при такой слабой гидратации или низких концентрациях реагентов может быть непрактичной ввиду относительной неэффективности сшивающего агента.

Пример 21

Приготовление геля ГК/ГМДА со сниженным эффектом Тиндаля

20,0 г 100 mM MES-буфера (pH 5,2) добавляли в шприц, содержащий 1000,0 мг НМ ГК. Раствор ГМДА получали путем растворения 260,9 мг ГМДА-HCl в 2010,5 мг 100 mM MES-буфера (pH 5,2) и добавления 2 мкл 1 M NaOH для доведения pH до 5,2. Раствор EDC получали путем растворения 254,2 мг EDC в 1188,4 мг 100 mM MES-буфера (pH 5,2); в отдельном флаконе растворяли 44,3 мг NHS в 1341,8 мг 100 mM MES-буфера (pH 5,2). После полной гидратации ГК в течение ~1 ч к гидратированной ГК добавляли 790 мкл раствора ГМДА. Смесь гомогенизировали путем 10-кратного переноса из шприца в шприц. Затем к гомогенизированной пасте добавляли по 490 мкл растворов EDC и NHS и вновь смешивали 10 раз путем переноса из шприца в шприц. Затем смесь переносили во флакон и сшивали при комнатной температуре в течение 5 ч, а затем добавляли 17,9 мл 1X PBS-буфера (pH 7,4). Гель оставляли набухать на 3 суток на роликовой качалке, а затем продавливали его через сетку с размером ячеек 60 мкм. Отсортированный по размеру гель помещали в мембранную диализную трубку из эфира целлюлозы с показателем отсеки по молекулярной массе 20 кДа и диализовали против 1X PBS в течение 4 суток, меняя буфер дважды в день. Гель распределяли в 1-мл СОС-шприцы, центрифугировали при 5000 об/мин в течение 5 мин и стерилизовали текучим паром. Конечная концентрация ГК в геле составляла 25 мг/г.

Пример 22

Приготовление геля ГК/4 АА со сниженным эффектом Тиндаля

32,55 г 100 mM MES-буфера (pH 5,2) добавляли в шприц, содержащий 1000,4 мг НМ ГК. Раствор 4 АА получали путем растворения 256,3 мг 4 АА в 1039,8 мг 100 mM MES-буфера (pH 5,2) и добавления 380 мкл 6 M HCl для доведения pH до 5,2. Раствор EDC получали путем растворения 251,2 мг EDC в 1013,8 мг 100 mM MES-буфера (pH 5,2); в отдельном флаконе растворяли 74,7 мг NHS в 2020,0 мг 100 mM MES-буфера (pH 5,2). После полной гидратации ГК в течение ~1 ч к гидратированной ГК добавляли 260 мкл раствора 4 АА. Смесь гомогенизировали путем 10-кратного переноса из шприца в шприц. Затем к гомогенизированной пасте добавляли 277 мкл раствора EDC и 273 мкл раствора NHS и вновь смешивали 10 раз путем переноса из шприца в шприц. Затем смесь

переносили во флакон и сшивали при комнатной температуре в течение 5 ч, а затем добавляли 6,4 мл 10X PBS-буфера (рН 7,4). Гель оставляли набухать на 3 суток на роликовой качалке, а затем продавливали его через сетку с размером ячеек 60 мкм. Отсортированный по размеру гель помещали в мембранную диализную трубку из эфира целлюлозы с показателем отсечки по молекулярной массе 20 кДа и диализовали против 1X PBS в течение 4 суток, меняя буфер дважды в день. Гель распределяли в 1-мл СОС-шприцы, центрифугировали при 5000 об/мин в течение 5 мин и стерилизовали текучим паром. Конечная концентрация ГК в геле составила 23 мг/г.

Пример 23

Определение реологических свойств гелей, описанных в Примерах 19-22.

Для измерения реологических свойств гелей использовали колебательный реометр с плоскопараллельным зазором Anton Paar, Physica MCR 301. Использовали пластины диаметром 25 мм в шириной зазора 1 мм. Измерения проводили при постоянной температуре 25°C. Каждое измерение состояло из изменения частоты от 1 до 10 Гц при постоянной деформации 2% и логарифмического увеличения частоты с последующим изменением деформации от 1 до 300% при постоянной частоте 5 Гц с логарифмическим увеличением деформации. Динамический модуль упругости (G') и модуль вязкости (G'') получали из развертки деформации при 1% деформации.

Динамический модуль упругости и модуль вязкости гелей, полученных в Примерах 19-22

ID образца	Динамический модуль упругости (G'), Па.	Модуль вязкости (G''), Па.
Пример 19	84	25
Пример 20	83	33,7
Пример 21	67	42
Пример 22	41	29,5

Пример 24

Измерение усилия выдавливания гелей, описанных в Примерах 19-22.

Усилие, требуемое для выдавливания геля через иглу 30 калибра, измеряли с помощью Instron 5564 и программного обеспечения Bluehill 2. Гели выдавливали из 1-мл СОС-шприца через иглу 30G $\frac{1}{2}$ TSK. Поршень сдвигали на 11,35 мм со скоростью 100 мм/мин и регистрировали усилие выдавливания.

Усилие выдавливания гелей, полученных в Примерах 19-22

ID образца	Усилие выдавливания (Н)
Пример 19	25
Пример 20	24
Пример 21	22
Пример 22	19,5

Пример 25

Проверка биосовместимости гелей, описанных в Примерах 19-22.

50-мкл болюсные инъекции геля интрадермально имплантировали в спинную часть тела крыс Sprague Dawley. Имплантаты удаляли через 1 неделю и гистологически анализировали при окрашивании гематоксилином и эозином (H&E) и окрашивании CD68, являющегося маркером воспалительных мононуклеарных клеток. Три 20X изображения CD68 оценивали по шкале от 0 до 4 на основании степени окрашивания. Затем указанные значения усредняли, получая показатель для образца. Анализировали четыре образца каждого геля.

Средние показатели CD68 в Примерах 19-22

ID образца	Показатель
Пример 1	1,8
Пример 2	1,6
Пример 3	2,7
Пример 4	1,3

Пример 26

Проверка цитотоксичности гелей, описанных в Примерах 19-22. ISO 10993-5.

Тесты цитотоксичности гелей *in vitro* выполнили в NAMSA согласно способу наложения агарозы по ISO 10993-5: биологическая оценка медицинских приборов - часть 5: Тесты цитотоксичности *in vitro*. В лунки в трех повторностях вносили по 0,1 мл тестируемых материалов, помещенных фильтровальный диск, а также 0,9% раствор NaCl, фрагмент полиэтилена высокой плотности длиной 1 см в качестве отрицательного контроля и фрагмент латекса 1×1 см² в качестве положительного контроля. Каждый образец помещали на поверхность агарозы, непосредственно наложенной на монослой фибробластов мыши L929. После инкубирования при 37°C в 5% CO₂ в течение 24 ч культуры изучали макроскопически и микроскопически на предмет клеток с атипичной морфологией и лизиса клеток. Тестируемые материалы оценивали по шкале от 0 до 4 на основании зоны лизиса в непосредственной близости от образцов. Тестируемые материалы из примеров 1, 3 и 4 получили оценку 0 ввиду отсутствия признаков того, что указанные тестируемые материалы вызывали лизис клеток или обладали токсичностью.

Количественный анализ эффекта Тиндаля

В целях дальнейшей поддержки визуальных наблюдений и проведения сравнительного анализа производительности ГК-наполнителей посчитали необходимым выполнить количественный анализ эффекта Тиндаля. Количественной методики для оценки эффекта Тиндаля, специфической для кожных наполнителей, в литературе не существует. Тем не менее, на основе существующих научных знаний о рассеянии света и взаимодействии света с кожей для количественной оценки эффекта Тиндаля в коже использовали два различных подхода на основе (а) колориметрии и (b) спектроскопии. На основе этих методик для измерения эффекта Тиндаля *in vivo* выбрали три различных количественных параметра (описанные ниже).

а) Визуальная оценка эффекта Тиндаля: Использовали шкалу от 1 до 5 с шагом 0,5. 1 балл давали областям инъекции с нормальным тоном кожи без посинения. Максимальный балл 5 давали насыщенному и выраженному синему оттенку (как правило, ассоциированному с Restylane или Juvéderm Ultra Plus). Три независимых наблюдателя обучались по данной шкале, а затем выполняли слепую оценку

тестируемых образцов.

б) Синий компонент цвета кожи - "b": Для количественного определения синего компонента света, рассеянно отраженного от участков кожи после введения различных наполнителей, использовали хромометр (CM2600D, Konica Minolta, штат Нью-Джерси, США). Измерение осуществляли по компоненту "b" цветовой гаммы L-a-b.

с) "% синего света", рассеянно отраженного от кожи: Для количественного определения % синего света, рассеянно отраженного от кожи во всем диапазоне видимого света, использовали портативный спектрофотометр (CM2600D, Konica Minolta, штат Нью-Джерси, США). Измерение осуществляли путем интеграции площади под спектром видимого света в диапазоне 400-490 нм и его нормировки по общей площади под спектром (400-700 нм).

Пример 27

Оценка эффекта Тиндаля гелей

Гели вводили путем интрадермальной инъекции через иглу 27G½ TSK с использованием линейной нитевой методики в бедра двухмесячной беспшерстной крысы. Гели имплантировали поверхностно с целью имитации клинические процедур лечения мелких морщин. Тесты эффекта Тиндаля проводили через 48 ч после имплантации геля. Перед выполнением тестов эффекта Тиндаля животных умерщвляли с целью улучшения контраст эффекта Тиндаля ввиду отсутствия гемоглобина.

Снимки гелей, полученных в Примерах 19 и 21, через 2 дня после имплантации показаны на Фигуре 12. Для сравнения также показаны снимки доступных для приобретения Juvéderm Refine и Restylane Touch. Голубоватая линия (эффект Тиндаля) отчетливо видна на снимках коммерческих гелей Juvederm Refine и Restylane Touch. Гели из Примеров 19, 19А (не показано) и 21 не проявляли эффекта Тиндаля.

Для оценки областей инъекции использовали визуальную шкалу от 1 до 5 с шагом 0,5. На областях инъекции с оценкой 1 балл изменения оттенка кожи не проявлялись, в то время как на областях инъекции с оценкой 5 баллов продемонстрировано сильное посинение кожи. Кроме того, выполняли спектроскопические исследования областей инъекции с помощью хромометра (CM2600D, Konica Minolta, штат Нью-Джерси, США). Независимо измеряли синий компонент цвета кожи "b" и % синего света, диффузно отраженного от кожи (400-700 нм). На Фигурах 13 и 14 показана визуальная оценка эффекта Тиндаля и % рассеянно отраженного синего света. Гели из Примеров 19 и 21 не приводили к эффекту Тиндаля и имели наиболее низкие значения показателя визуальной оценки эффекта Тиндаля и % рассеянно отраженного синего света.

Показатель эффекта Тиндаля и % рассеянно отраженного синего света для Juvéderm Refine и Restylane Touch были более высокими. Belotero Soft не приводил к эффекту Тиндаля; его значения были сопоставимы со значениями гелей из Примеров 19 и 21. См. Фигуры 13 и 14.

Пример 28

Гистологическая оценка продолжительности действия гелей in vivo

50-мкл болюсные инъекции гелей согласно изобретению и коммерческих гелей интрадермально имплантировали в спинную часть тела крыс Sprague Dawley. Имплантаты удаляли через 1 неделю и гистологически анализировали при окрашивании гематоксилином и эозином (H&E). Срезы брали точно в областях инъекции. Из каждого образца ткани получали два среза; H&E-окрашенный срез сшивали, используя зоны шитья. Затем образцы группировали и оценивали следующим образом; отсутствует (0%), низкая (25%), средняя (50%) и высокая (100%) в зависимости от количества оставшегося материала. См. Фигуру 15.

Пример 28А

МРТ-оценка продолжительности действия гелей in vivo

Для оценки изменений объема и площади поверхности гелей согласно изобретению и коммерческих гелей в зависимости от времени в течение 40 недель после интрадермальных инъекций самкам крыс Sprague-Dawley использовали магнитно-резонансную томографию (МРТ). Гели вводили путем инъекции из расчета 150 мкл на имплантат. Имплантаты были расположены в двух областях с разных сторон тела слегка в сторону хвоста от плеч, в двух областях с разных сторон тела слегка ростральнее колена, и в двух областях с разных сторон тела посередине между головой и хвостом. МРТ проводили на МРТ-сканере 7 Tesla 70/30 Bruker Biospec MRI scanner. Изображения собирали в день имплантации (неделя 0) и через 12, 24, 40 недель после имплантации. Графики абсолютного объема геля в зависимости от времени показаны на Фигуре 16 ниже. Высокостабильные гели имели высокий абсолютный объем на 40 неделе после имплантации.

Пример 29

Композиции согласно изобретению, применявшиеся при лечении периорбитальных морщин

40-летняя стройная женщина с мелкими морщинами в периорбитальной области желала пройти лечение кожным наполнителем. С помощью иглы 30 калибра врач ввел 0,6 мл геля на основе ГК в соответствии с изобретением (например, описанного в Примере 19) в поверхностные мелкие морщины под каждым из ее глаз и в области слезной борозды с использованием линейной нитевой методики. Хотя гель вводили поверхностно, посинение не наблюдалось, и пациентка была довольна результатами.

Как показано, композиции по настоящему изобретению, например, описанные в Примерах 19 и 21, обладают сниженным или незначительным эффектом Тиндаля и существенно более продолжительным сроком действия в организме по сравнению с некоторыми коммерческими гелями на основе ГК, например, Juvederm Refine/Surgiderm 18 и Belotero Soft. Например, по сравнению с коммерческим составом Belotero Soft для лечения мелких морщин, композиция согласно Примеру 19 настоящего изобретения не только характеризовалась показателем эффекта Тиндаля, по меньшей мере не уступавшим указанному коммерческому гелю, но и выгодно демонстрировала значительно более продолжительное функционирование in vivo.

Пример 30

Инъецируемые композиции согласно изобретению для улучшения внешнего вида мелких морщин

Такие добавки, как витамин А, витамин В, витамин С, витамин D, витамин Е и их производные, по отдельности и в комбинации, конъюгировали с гелями сшитой гиалуроновой кислоты с целью получения разнообразных по существу оптически прозрачных инъецируемых гелей на основе ГК. Компонент ГК составлял по меньшей мере 90 мас.%, например, по существу полностью низкомолекулярной ГК, или приблизительно 100% ГК с низкой молекулярной массой, как определено в настоящем документе. Указанные добавки конъюгировали с гидрогелями ГК любыми подходящими способами. Конъюгированные гели доводили до определенного размера и обрабатывали, полученную инъецируемую рН-нейтральную композицию с высокой сцепляемостью и концентрацией ГК по меньшей мере приблизительно 20 мг/г, например, приблизительно 23, приблизительно 24 мг/г, приблизительно 25 мг/г, до приблизительно 30 мг/г, подходящую для инъекции через тонкую иглу. Гели характеризуются значением G' по меньшей мере приблизительно 50 Па, приблизительно 60 Па, приблизительно 70

Па, приблизительно 80 Па и не более чем приблизительно 100 Па. Гели упаковывали и стерилизовали автоклавированием, ультрафиолетовым излучением или другими подходящими средствами.

Каждый из гелей можно применять для поверхностных инъекций, например, инъекций в кожу на глубину не более чем приблизительно 1,0 мм, в морщины, например, в периорбитальной области, области носогубной складки, области слезной борозды, области шеи или любой другой области лица, для которой может быть полезен кожный наполнитель. Несмотря на поверхностное введение геля, посинения, вызванного эффектом Тиндаля, не наблюдалось, и пациенты были довольны результатами.

В заключение, следует понимать, что хотя аспекты настоящего документа описаны со ссылками на различные варианты реализации, специалист в данной области техники должен принимать во внимание, что конкретные описанные примеры лишь иллюстрируют принципы объектов изобретения, описанные в настоящем документе. Таким образом, следует понимать, что описанные объекты изобретения никоим образом не ограничиваются конкретной методологией, протоколом и/или реагентом и т.д., описанными в настоящем документе. Таким образом, специалисты в данной области техники могут осуществить многочисленные и разнообразные модификации или изменения, или получить альтернативные конфигурации описанного объекта изобретения в соответствии с информацией, изложенной в настоящем документе, не выходя за рамки сущности настоящего описания. Можно вносить изменения в детали настоящего изобретения без выхода за его рамки, которые установлены в прилагаемой формуле изобретения. Наконец, используемая в настоящем документе терминология предназначена лишь для целей описания конкретных вариантов реализации и не должна рассматриваться в качестве ограничения рамок настоящего изобретения, которые определяются исключительно формулой изобретения. Кроме того, предполагается, что весь материал, содержащийся в приведенном выше описании или показанный на прилагаемых чертежах, следует интерпретировать как носящий только иллюстративный, а не ограничивающий характер. Соответственно, настоящее изобретение не ограничено буквальным приведенным описанием.

В настоящем документе описаны некоторые варианты реализации настоящего изобретения, включая наилучшие способы его осуществления, известные авторам. Разумеется, изменения указанных описанных вариантов реализации очевидны для специалистов при чтении вышеприведенного описания. Автор изобретения ожидает, что специалисты при необходимости будут использовать такие изменения, и предусматривают, что настоящее изобретение может быть осуществлено иначе, чем описано в настоящем документе. Соответственно, настоящее изобретение включает все модификации и эквиваленты объекта изобретения, описываемого формулой изобретения, прилагаемой к настоящему документу, как предусмотрено действующим законодательством. Более того, настоящее изобретение включает любые комбинации вышеописанных элементов и их всевозможных вариантов, если иное не указано в настоящем документе или не следует из контекста явным образом.

Группировка альтернативных элементов или вариантов реализации изобретения, описанные в настоящем документе, не должна истолковываться в качестве ограничений. Каждый член группы может упоминаться и входить в состав формулы изобретения по отдельности или в любой комбинации с другими членами группы или другими элементами, содержащимися в настоящем документе. Предполагается, что один или более членов группы могут быть включены или удалены из группы из соображений удобства и/или патентоспособности. При таком включении или удалении считается,

что настоящее описание содержит модифицированную группу, таким образом соответствуя письменному описанию всех групп Маркуша, используемых в прилагаемой формуле изобретения.

Если не указано иное, все числа, выражающие количества ингредиентов, такие свойства, как молекулярная масса, условия реакции и т.д., используемые в описании и формуле изобретения, во всех случаях следует понимать как модифицированные термином “приблизительно”. В настоящем документе термин “приблизительно” означает, что элемент, параметр или срок, описанный таким образом, включает диапазон плюс-минус десять процентов от значения указанного элемента, параметра или срока. Соответственно, если не указано иное, числовые параметры, приведенные в настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения, являются приближенными значениями, которые могут изменяться в зависимости от желательных свойств, которые должны быть получены с помощью настоящего изобретения. По меньшей мере и не в качестве попытки ограничить применение доктрины эквивалентов к сущности формулы изобретения, каждый числовой параметр следует истолковывать по меньшей мере в свете количества приведенных значащих цифр и с применением обычных способов округления. Несмотря на то, что числовые диапазоны и параметры, представляющие основную сущность изобретения, являются приближенными, числовые значения, изложенные в конкретных примерах, приведены как можно точнее. В то же время любое численное значение по своей сути содержит определенные ошибки, неизбежно происходящие от стандартного отклонения, обнаруживаемого при соответствующих тестовых измерениях.

Термины “какой-либо”, “указанный” и аналогичные обозначения, используемые в контексте описания изобретения (особенно в контексте формулы изобретения, приведенной ниже) следует рассматривать как охватывающие и единственное, и множественное число, если иное не обозначено в настоящем документе или не следует из контекста явным образом. Подразумевают, что перечисление диапазонов значений в настоящем документе используют лишь для укорачивания описания способа, относящегося к каждому отдельно взятому значению, лежащему в пределах этого диапазона. Если в настоящем документе не указано иное, каждое отдельное значение включено в описание, как если бы оно было отдельно приведено в настоящем документе. Все способы, описанные в настоящем документе, можно выполнять в любом порядке, если иное не указано в настоящем документе или не следует из контекста явным образом. Подразумевают, что использование всевозможных примеров или иллюстративных выражений (например, “такой, как”) представлено в настоящем документе лишь для лучшего освещения изобретения и не предполагает ограничения рамок изобретения, если иное не указано в формуле изобретения. Ни одно выражение в описании не следует рассматривать в качестве обозначения элемента, не предусмотренного формулой изобретения и необходимого для осуществления изобретения.

Конкретные варианты реализации, описанные в настоящем документе, могут быть дополнительно ограничены в формуле изобретения с использованием выражений “состоящий из” или “состоящий в основном из”. При использовании в формуле изобретения, независимо от его употребления при подаче заявки или добавлении поправок, переходный термин “состоящий из” исключает любой элемент, этап, или ингредиент, не указанный в формуле изобретения. Переходный термин “состоящий в основном из” ограничивает сущность формулы изобретения указанными материалами или этапами, а также материалами или этапами, не оказывающими существенного влияния на основные и новые характеристики. Варианты реализации настоящего

изобретения, указанные в формуле изобретения таким образом, естественным образом или специально описаны и включены в настоящий документ.

Все патенты, патентные публикации и другие публикации, упомянутые и идентифицированные в настоящем описании, по отдельности и специальным образом включены в настоящий документ посредством ссылок во всей их полноте с целью описания, например, композиций и методологии, описанных в таких публикациях, которые можно использовать в связи с настоящим изобретением. Указанные публикации приведены исключительно для их описания до даты подачи настоящей заявки. В связи с этим, ничто в настоящем документе не следует интерпретировать в качестве признания того, что авторы изобретения не имеют права датировать данное описание более ранним числом в силу более раннего изобретения или по любой другой причине. Все заявления относительно даты или представления содержания указанных документов основаны на информации, имеющейся у заявителей, и не представляют собой какого-либо допущения по поводу правильности дат или содержания указанных документов.

(57) Формула изобретения

1. Композиция кожного наполнителя, содержащая:
производное витамина С, ковалентно конъюгированное с компонентом гиалуроновой кислоты при степени конъюгирования по меньшей мере 3 мол.%;

где компонент гиалуроновой кислоты представляет собой гиалуроновую кислоту, сшитую диглицидиловым эфиром 1,4-бутандиола, причем гиалуроновая кислота имеет среднюю молекулярную массу менее 1000000 Да;

и где производное витамина С выбрано из группы, состоящей из 2-глюкозида аскорбиновой кислоты, L-аскорбил-3-аминопропилфосфата и аскорбилфосфата натрия;

причем указанная композиция является по существу оптически прозрачной и характеризуется значением G', составляющим по меньшей мере 25 Па и не более 200 Па.

2. Композиция по п. 1, содержащая концентрацию гиалуроновой кислоты от 18 до 30 мг/г.

3. Композиция по п. 1, содержащая концентрацию гиалуроновой кислоты от 12 до 30 мг/г.

4. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что степень конъюгирования составляет 10 мол.%.

5. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что указанная гиалуроновая кислота имеет среднюю молекулярную массу от 300 до 900 кДа.

6. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что производное витамина С представляет собой 2-глюкозид аскорбиновой кислоты.

7. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что производное витамина С представляет собой L-аскорбил-3-аминопропилфосфат.

8. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что производное витамина С представляет собой аскорбилфосфат натрия.

9. Композиция по п. 1, характеризующаяся значением G' от 25 до 150 Па.

10. Композиция по п. 1, характеризующаяся значением G' от 40 до 100 Па.

11. Композиция по п. 1, дополнительно содержащая анестетик.

12. Композиция по п. 11, отличающаяся тем, что анестетик представляет собой лидокаин.

13. Инъецируемая композиция для снижения внешних проявлений мелких морщин на лице, содержащая:

производное витамина С, ковалентно конъюгированное с гиалуроновой кислотой, сшитой диглицидиловым эфиром 1,4-бутандиола, причем гиалуроновая кислота имеет среднюю молекулярную массу от 300 до 900 кДа;

причем степень конъюгирования составляет 10 мол.%;

- 5 где указанное производное витамина С выбрано из группы, состоящей из 2-глюкозида аскорбиновой кислоты, L-аскорбил-3-аминопропилфосфата и аскорбилфосфата натрия; причем указанная композиция характеризуется значением G' от 60 до 80 Па.

14. Композиция по п. 13, отличающаяся тем, что средняя молекулярная масса гиалуроновой кислоты составляет от 300 до 500 кДа.

- 10 15. Композиция по п. 13, отличающаяся тем, что значение G' композиции составляет 80 Па.

16. Композиция по п. 13, являющаяся оптически прозрачной.

17. Композиция по п. 13, содержащая концентрацию гиалуроновой кислоты 25 мг/г.

- 15 18. Композиция по п. 13, отличающаяся тем, что производное витамина С представляет собой 2-глюкозид аскорбиновой кислоты.

19. Композиция по п. 13, отличающаяся тем, что производное витамина С представляет собой L-аскорбил-3-аминопропилфосфат.

20. Композиция по п. 13, отличающаяся тем, что производное витамина С представляет собой аскорбилфосфат натрия.

- 20 21. Композиция по п. 13, дополнительно содержащая анестетик.

22. Композиция по п. 21, отличающаяся тем, что анестетик представляет собой лидокаин.

25

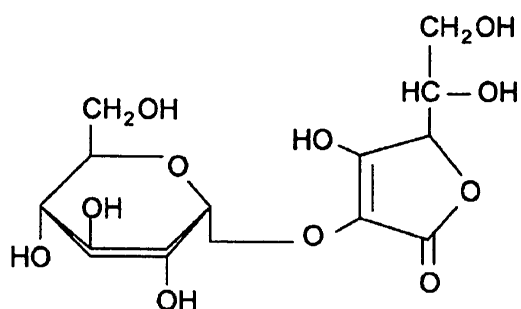
30

35

40

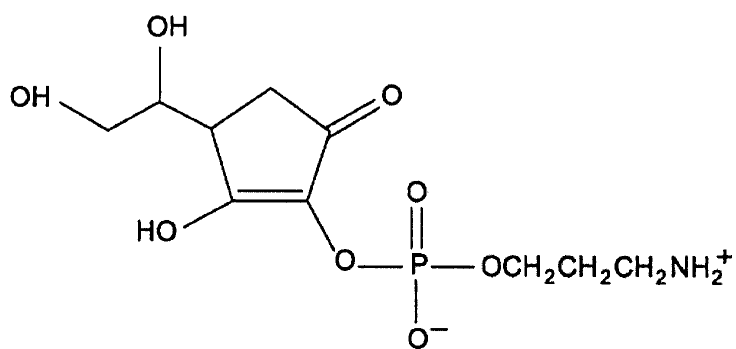
45

1



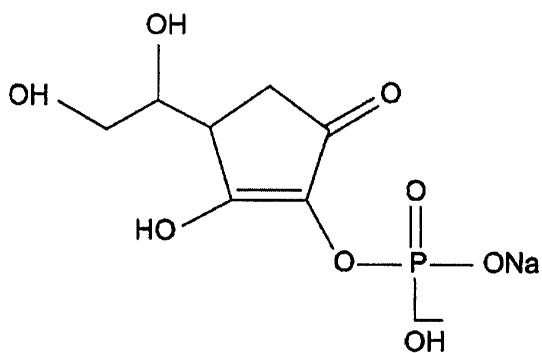
AA2G, (2-глюкозид L-аскорбиновой кислоты)

ФИГ. 1



Vitagen, (аскорбил-3-аминопропилфосфат)

ФИГ. 2

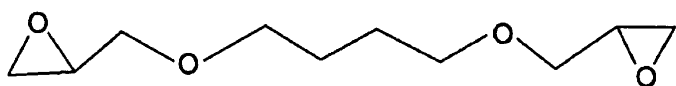


AA2P, аскорбилфосфат натрия

ФИГ. 3

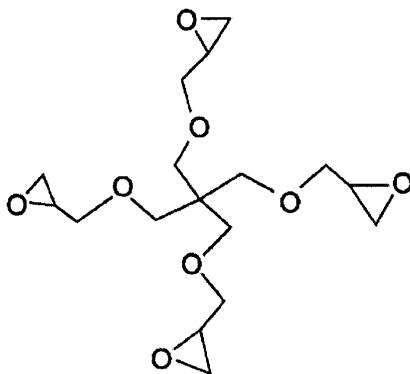
1

2



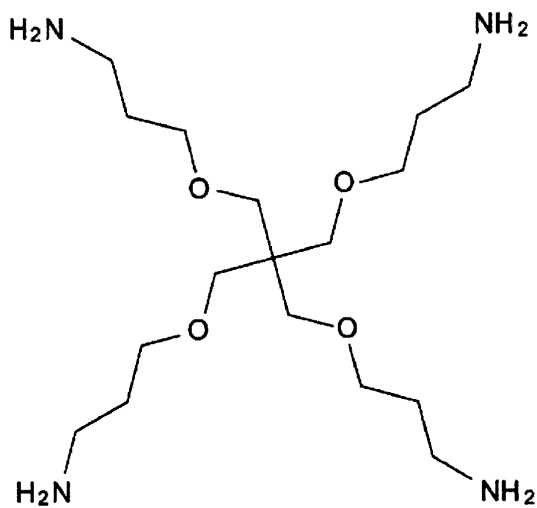
BDDE, BDDE, диглицидиловый эфир 1,4-бутандиола

ФИГ. 4



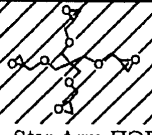
Star-ПЭГ-эпоксид, глицидиловый эфир пентаэритрита

ФИГ. 5



Star-ПЭГ-амин, 3-аминопропиловый эфир пентаэритрита

ФИГ. 6

ID образца	Сшивающий агент	Степень конъюгирования (ГК-АА2G, мол.%)	G' (Па)
		12	69
		9.78	291
		10.47	377
	BDDE	12.44	1160
		32.26	132
		31.25	263
		20.48	421
		31.87	1160
	Star Arm-ПЭГ-эпоксид		

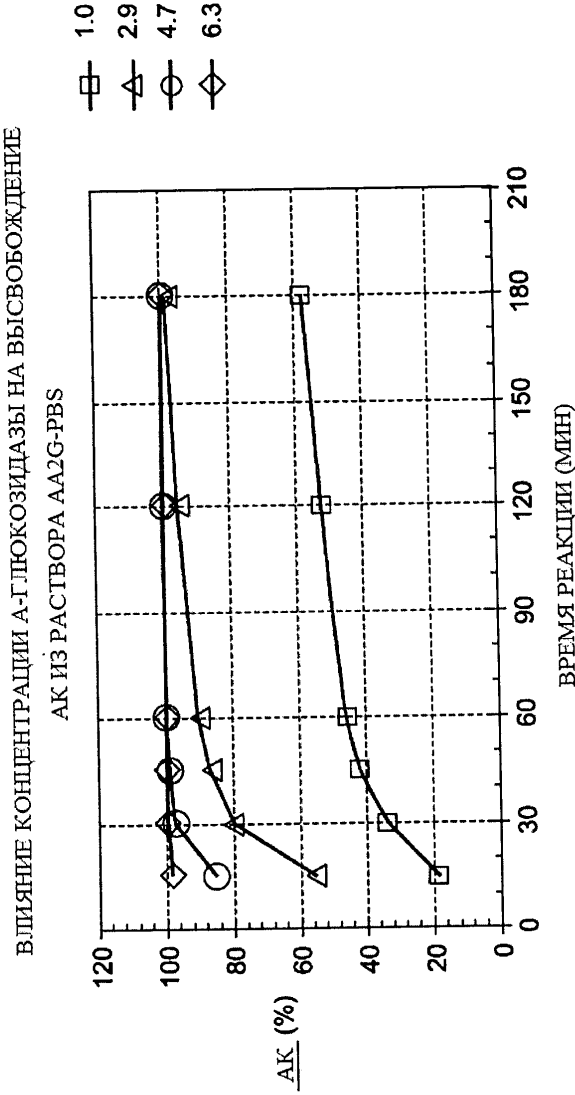
ГК-АА2G/эпоксид: результаты синтеза геля

ФИГ. 7

Степень конъюгирования (ГК-АА2G, мол.%)	Конц. геля (мг/мл)	G' (Па)
8.0	25	42
12.0	17	69
11.6	24	113
12.6	24	237
9.8	17	291
10.5	17	377
8.5	26	700
13.0	22	1010
11.9	23	1260

ГК-АА2G (BDDE)

ФИГ. 8

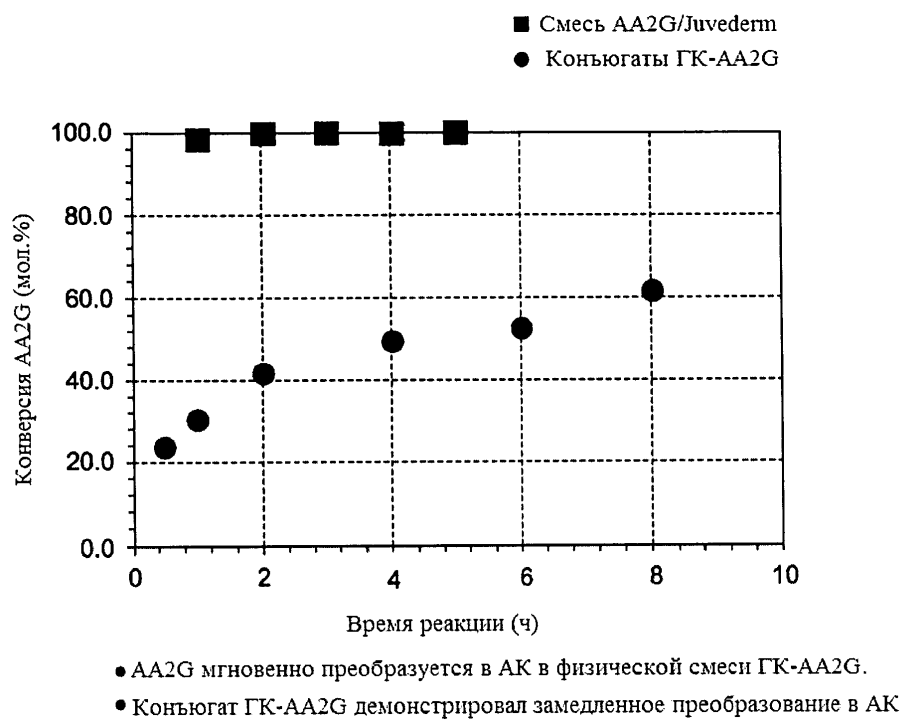


РАЗРАБОТАН ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ СПОСОБ ЭФФЕКТИВНОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ AA2G
ДО АК НА ОСНОВЕ А-ГЛЮКОЗИДАЗЫ

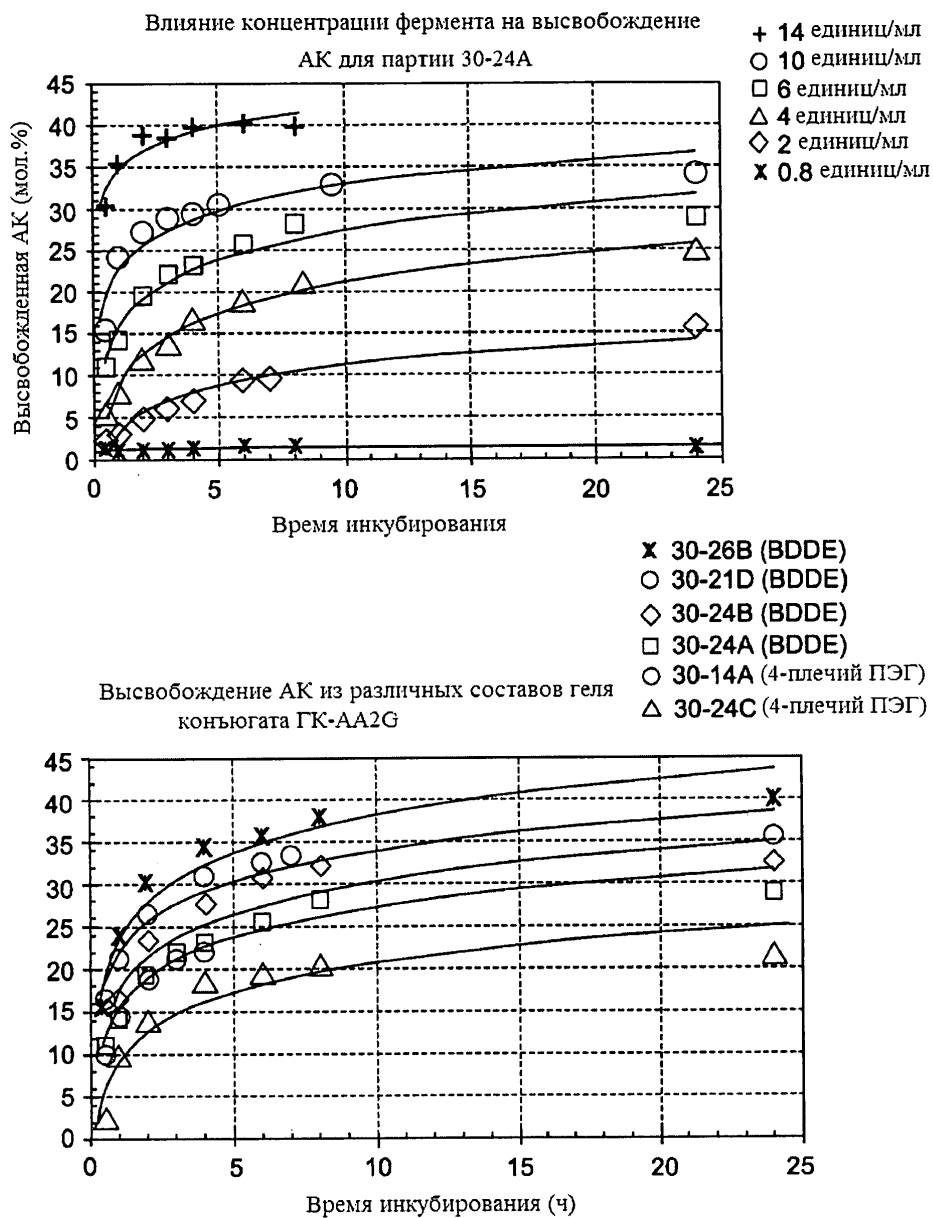
- БЫСТРОЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЕ
- ПРЕОБРАЗОВАНИЕ AA2G ЗАВИСИТ ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ФЕРМЕНТА - 100% ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ДОСТИГАЕТСЯ В ТЕЧЕНИЕ НЕСКОЛЬКИХ МИНУТ ПРИ ВЫСОКОЙ
- РЕАКЦИЯ СООТВЕТСТВУЕТ КИНЕТИКЕ ПЕРВОГО ПОРЯДКА:

$$C = C_0 (1 - e^{-kt})$$

ФИГ. 9



ФИГ. 10

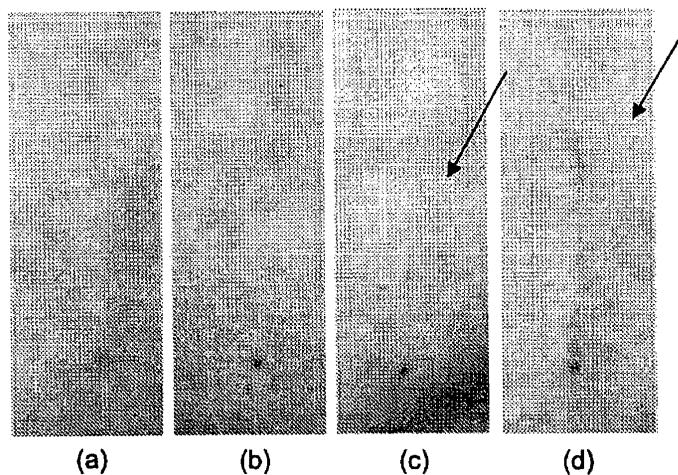


ФИГ. 11А

Сшивающий агент	Степень конъюгирования (моль АК / моль AA2G), %
BDDE	9.78
BDDE	10.04
BDDE	10.49
BDDE	13.76
Star-ПЭГ	19.30
Star-ПЭГ	31.87

Для одного и того же состава высвобожденное количество возрастает с увеличением концентрации фермента.

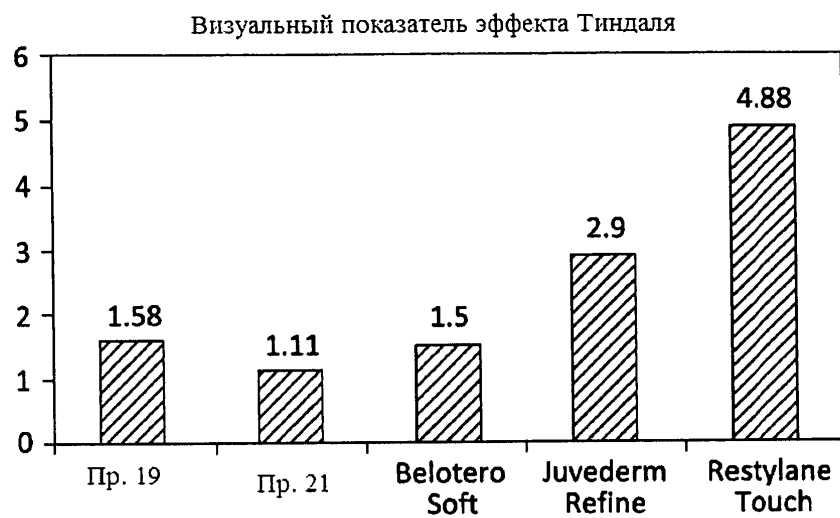
ФИГ. 11В



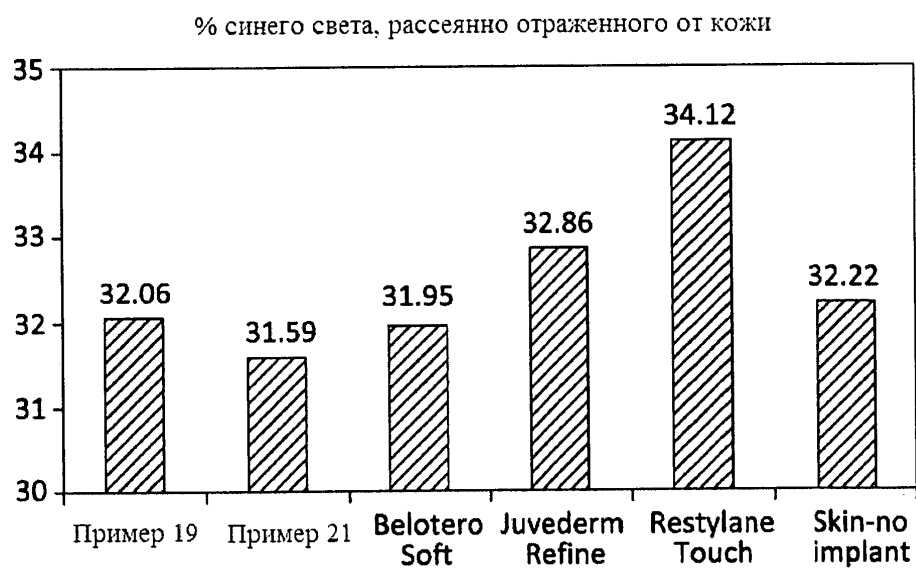
Изображения гелей из

(a) Примера 19, (b) Примера 21, (c) Juvederm Refine и (d) Restylane Touch

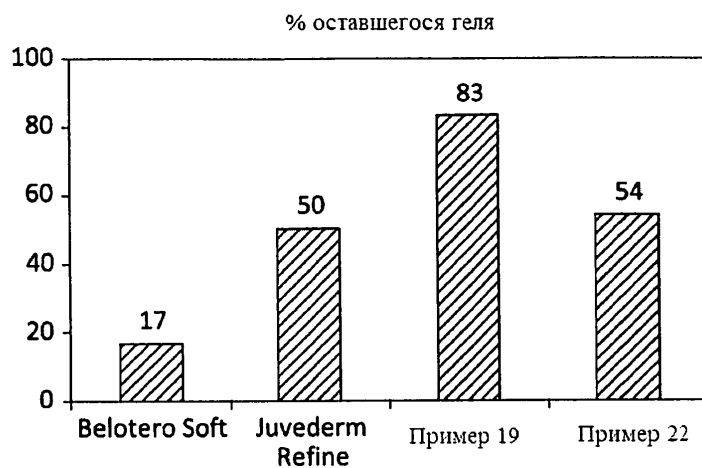
ФИГ. 12



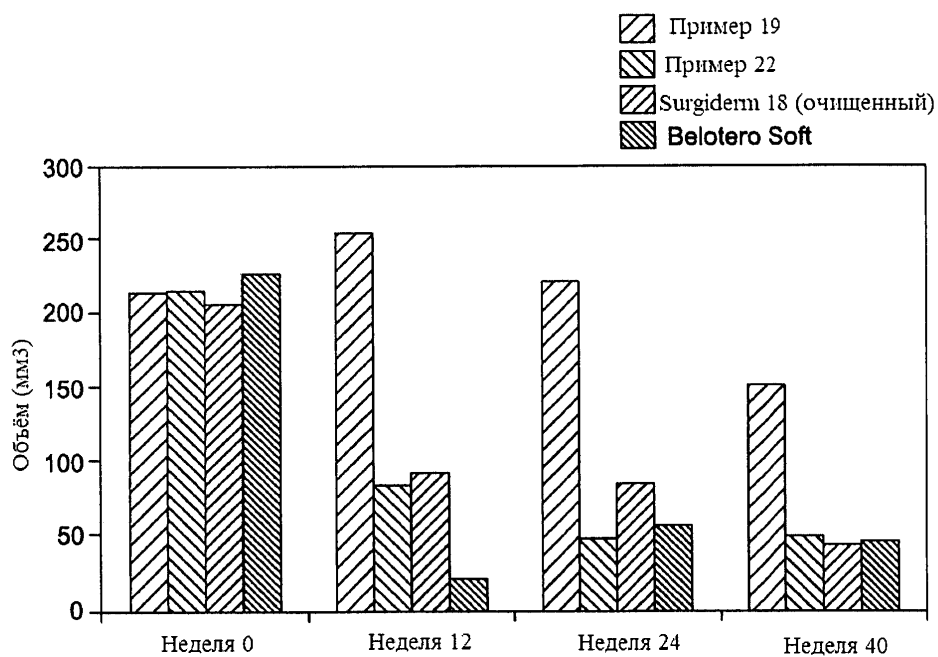
ФИГ. 13



ФИГ. 14



ФИГ. 15



ФИГ. 16