

# TÍTULO DE PATENTE No. 360365

**Titular(es):** GLYCOBIOSCIENCES INC.

**Domicilio:** 7 Timber Court, Georgetown, Ontario, L7G 4S4, CANADÁ

**Denominación:** COMPOSICIONES DE MATRIZ POLIMÉRICA QUE COMPRENDEN UNA ALTA CONCENTRACIÓN DE HIALURONATO DE SODIO BIO-FERMENTADO Y USOS DE LAS MISMAS.

**Clasificación:** CIP: A61K31/728; A61K9/06; A61K47/10; A61K47/14; A61K47/32  
CPC: A61K31/728; A61K9/06; A61K9/0014; A61K9/0034; A61K31/047; A61K31/196; A61K31/7455; A61K2300/00; A61L26/008; A61L26/0023; \*  
CSet1: A61L26/0023; C01E5/30 \*

**Inventor(es):** KEVIN DRIZEN; JAYVEEN SAINI

**Número:** MX/a/2016/008559

**Fecha de Presentación:** 27 de junio de 2016

**Hora:** 15:15

**Pais:** CA

**Fecha de Expedición:** 30 de julio de 2018

**Número:** 2,895,038  
1517,006.9

**Vigencia:** Veinte años

**Fecha de Vencimiento:** 27 de junio de 2036

**Fecha de Expedición:** 30 de octubre de 2018

La patente de referencia otorga con fundamento en los artículos 18, 2º fracción V, 5º fracción III, y 59 de la Ley de la Propiedad Industrial.

De conformidad con el artículo 23 de la Ley de la Propiedad Industrial, la presente patente tiene una vigencia de veinte años improrrogables, contada a partir de la fecha de presentación de la solicitud y estará sujeta al pago de la tarifa para mantener vigentes los derechos.

Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en lo dispuesto por los artículos 6º, fracciones III y 7º bis 2 de la Ley de la Propiedad Industrial (Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) 17/03/1994, reformado el 02/03/1994, 15/10/1995, 26/12/1997, 17/01/1999, 26/01/2004, 16/06/2005, 25/01/2006, 06/05/2009, 06/01/2010, 16/01/2010, 28/06/2010, 27/11/2012, 09/04/2013, 01/06/2016 y 13/07/2016); artículos 1º, 3º fracción V inciso a), 4º y 12º fracciones I y III del Reglamento del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 14/12/1999, reformado el 01/07/2002, 15/07/2004, 28/07/2004 y 7/09/2007); artículos 1º, 3º, 4º, 5ª fracción inciso a), 16 fracciones I, III y 30 del Estatuto Orgánico del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 27/12/1999, reformado el 07/07/2002, 29/11/2003, 04/08/2004 y 16/09/2007); 1º, 3º y 5º inciso a) del Acuerdo que delega facultades en los Directores Generales Adjuntos, Coordinador, Director, Directores Regionales, Titulares de las Oficinas Regionales, Subdirectores Divisionales, Coordinadores Departamentales y otros subalternos del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. (D.O.F. 15/12/1999, reformado el 04/02/2000, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007).

El presente oficio se signa con firma electrónica avanzada (FIEL), con fundamento en los artículos 7 BIS 2 de la Ley de la Propiedad Industrial; 3o de su Reglamento, y 1 fracción III, 2 fracción V, 26 BIS y 26 TER del Acuerdo por el que se establecen los lineamientos para el uso del Portal de Pagos y Servicios Electrónicos (PASE) del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, en los trámites que se indican.

## LA DIRECTORA DIVISIONAL DE PATENTES NAHANNY CANAL REYES



Cadena Original:  
NAHANNY MARISOL CANAL REYES|00001000000403252793|Servicio de Administración Tributaria|1695||MX/2019/4482|MX/a/2016/008559|Título de patente normal|1220|RRGO|Pág(s) 2|FPIKk58Cos3UxUJ4MW8GrJKMfU=

Sello Digital:  
XdpGIne5mtPmDloxZYqnKM9IGa7bgrdJhK3eyUJjEWaSeW4tW/n1c0k5NzwDrc7fqazQi/YIC4ds5RRgosljSIA7  
iLmjabDVu6RG3gx7jotyhPkqx38GcgwUaNIImEpOGWbAY2NVg2rZc6tPKC9ZggFStCvhK1h4/6d/Ltb2f/GADq4b0Qs  
P0T89jdyI6DHeKNnPKT0vqm+oiT7I7zfeatbC43rd741avRKpj7IEGIVrHXW+f4es0YjC7H4uZ9e3LQvduHupcic8U  
ogawkRqSoN+hVt6s2/JIPj4ZbGtK+QO+kjxp0i62X44q8BvGUyVJYocSoJioVIHhEyEs4zww==

\* Información adicional al reverso



360365



**COMPOSICIONES DE MATRIZ POLIMÉRICA QUE COMPRENDEN UNA ALTA**  
**CONCENTRACIÓN DE HIALURONATO DE SODIO BIO-FERMENTADO Y USOS DE**  
**LAS MISMAS**

5

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones de matriz polimérica que comprenden hialuronato de sodio. Más particularmente, la presente invención se refiere a composiciones de matriz polimérica que comprenden hialuronato de sodio obtenidas a partir de una fuente bacteriana y que son útiles en el tratamiento de heridas e incisiones, tratamiento de dolor, suministro transdérmico de ingredientes activos, liberación prolongada de ingredientes activos y preparación de lubricantes personales.

10

**Antecedentes de la invención**

El ácido hialurónico (HA) es un mucopolisacárido de origen natural (conocido también comúnmente como glicosaminoglucano). Ha sido aislado por varios métodos a partir de numerosas fuentes tisulares incluyendo humor vítreo, piel, fluido sinovial, suero, crestas de pollo, piel de tiburón, cordones umbilicales, tumores, estreptococos hemolíticos de piel de cerdo, cartílago de ballena y las paredes de venas y arterias. Sin embargo, el HA puede ser también sintetizado artificialmente o elaborarse por tecnología recombinante. Además, se conoce que el HA también puede ser fabricado por fermentación de cepas bacterianas de *Streptococcus zooepidemicus* seleccionadas (véase patente de E.U.A. No. 4,517,295 expedida a Bracke et al), y pueden convertirse fácilmente en su sal sodio. La unidad de repetición de la molécula de HA es un disacárido que consiste en ácido D-glucurónico y N-acetil-D-glucosamina. Debido a que HA tiene una carga negativa a pH neutro, es soluble en agua, en donde forma soluciones

20

25



altamente viscosas.

Fracciones de HA, incluyendo su sal sodio, se sabe que forman una matriz polimérica estable cuando se combinan con un polímero no iónico tal como hidroxietilcelulosa o hidroxipropilcelulosa. Se sabe que estas formulaciones de matriz polimérica son útiles en la preparación de composiciones para varias aplicaciones para uso humano y animal.

Por ejemplo, una formulación que contiene hialuronato de sodio e hidroxietilcelulosa fue comercializada anteriormente con el nombre Gel para Heridas de Matriz de Polímero Iónico (IMP) para su aplicación a heridas para promover la curación de las heridas. Además, matrices poliméricas de HA formuladas con otros ingredientes activos se sabe que son útiles como formulaciones farmacéuticas tópicas para el suministro de los ingredientes activos a sitios debajo del nivel térmico de la piel. Las formulaciones de ingredientes activos tópicos de matriz de polímero HA para suministro transdérmico de ingredientes activos se describen por ejemplo en la patente de E.U.A. 5,897,880, patente de E.U.A. 6,120,804, patente de E.U.A. 6,387,407 y patente de E.U.A. 6,723,345. Matrices poliméricas de HA formuladas con otros ingredientes activos también se conoce que son útiles como formulaciones para la liberación prolongada de los agentes farmacéuticos. En las formulaciones de matriz de polímero de HA para el suministro de liberación prolongada de ingredientes activos se describen en la patente de E.U.A. 6,063,405, patente de E.U.A. 6,335,035 y patente de E.U.A. 6,007,843.

La preparación de formulaciones de matriz de polímero de hialuronato de sodio presenta muchos retos. Inicialmente, en los 1980 sólo HA obtenido de fuentes animales estaba disponible comercialmente, y muchas de las formulaciones eran suministradas por inyección, o se usaban como gotas en el ojo, en lugar de para uso tópico para condiciones dermatológicas. El HA natural usado en varias formulaciones

normalmente ha sido obtenido de crestas de gallo. La cresta de gallo (conocida también como cresta de pollo) es una fuente aviaria y como tal es de origen animal. Como resultado, se ha sabido que las formulaciones de hialuronato de sodio fabricadas usando hialuronato de sodio de crestas de gallo que causan alergias y portan otros riesgos asociados con productos de origen animal, en particular un riesgo de transmisión de enfermedades animales a humanos. En consecuencia, los productos tópicos actualmente aprobados que contienen formulaciones de hialuronato de sodio disponibles en el mercado son contraindicados para aquellos pacientes que son hipersensibles a hialuronato de sodio de origen animal.

Más aún, el hialuronato de sodio es difícil de formular a altas concentraciones por arriba de 1.5% p/p, debido a la dificultad para fabricar una formulación que mantenga estabilidad y no sea demasiado viscosa para uso normal cuando se envase en un tubo. Por esta razón muchas de las formulaciones comerciales en el mercado tienen una concentración de HA o hialuronato de sodio muy por debajo de 1% p/p, y muchas de hecho tienen una concentración de alrededor de 0.2% p/p. Hasta el conocimiento de los inventores, no hay productos actualmente en el mercado que contengan más de 1.5% p/p de hialuronato de sodio. Cuando no se mezclan y se fabrican adecuadamente, la formulación de alta concentración de HA o hialuronato de sodio se degradará rápidamente y por lo tanto el porcentaje de HA o hialuronato de sodio en la formulación caerá debajo del límite aceptable (+/- 10% de la cantidad original), dando como resultado una vida útil muy corta para el producto. Las formulaciones que contienen una alta concentración de hialuronato de sodio presentan por lo tanto un reto debido a la inestabilidad de la matriz. Esto da como resultado inconsistencias en la formulación de la matriz y deteriora la capacidad de las formulaciones de hialuronato de sodio para llevar a cabo sus funciones. Por ejemplo, cuando se aplica a heridas para promover la sanación,



una formulación de matriz de polímero de hialuronato de sodio ayuda a mantener un  
ambiente húmedo en la herida, un efecto que depende de que la formulación mantenga  
su alto nivel de concentración de hialuronato de sodio. Se reconoce ampliamente que el  
mantenimiento de un ambiente de herida húmedo contribuye positivamente a la sanación  
de heridas. Sin embargo, debido a su estabilidad y a la caída resultante en el nivel de  
hialuronato de sodio que se presenta al degradarse a la formulación, las formulaciones de  
hialuronato de sodio de alta concentración no son efectivas para mantener un ambiente  
húmedo. Cuando se formulan para el suministro de un fármaco, la inconsistencia de las  
formulaciones de hialuronato de sodio de alta concentración reduce la capacidad de estas  
formulaciones para permitir que el fármaco se disemine a través del tejido cuando sea  
administrado, deteriorando de esta manera su capacidad para lograr la dosis terapéutica.

Además, el producto de formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio anteriormente comercializado con el nombre de Gel para Heridas de Matriz de Polímero Iónico (IPM) fue retirado del mercado debido a problemas con la formulación.

Por lo tanto, existe una necesidad por un método para formular una matriz de polímero de hialuronato de sodio que contenga una alta concentración de hialuronato de sodio que pueda fabricarse y venderse comercialmente.

### **Breve descripción de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones de matriz de polímero estables, de preferencia composiciones farmacéuticas, que comprenden una alta concentración (por ejemplo, alrededor de 1.5% a aproximadamente 3.5% p/p) de hialuronato de sodio obtenido a partir de una fuente bacteriana tal como una fuente de *Streptococcus zooepidemicus* o *Bacillus subtilis*. El hialuronato de sodio obtenido a partir de una fuente bacteriana es denominado en la presente en adelante como hialuronato de

sodio "bio-fermentado". Las composiciones comprenden además un polímero no iónico opcionalmente en una cantidad de aproximadamente 0.1% a alrededor de 2% p/p, polietilenglicol, metilparabeno y agua. Por "estables", según se usa en la presente, significa que la cantidad de hialuronato de sodio en la formulación no varía en +/- 10% (p/p) con respecto a la cantidad original provista en la composición, a 40°C, 75% de humedad relativa (condiciones de estabilidad acelerada) durante un periodo de al menos 6 meses, y/o a 25°C, 60% de humedad relativa (condiciones de estabilidad a largo plazo) durante un periodo de al menos 18 meses. La cantidad de hialuronato de sodio puede ser medida por técnicas de HPLC conocidas en la técnica del desarrollo farmacéutico.

10 En un aspecto de la presente invención, las composiciones de matriz polimérica de la presente invención comprenden componentes que son de grado farmacopeico (USP o Farmacopea Europea) y/o farmacéutica. Estos términos se describen más abajo. De preferencia, todos los componentes de las composiciones son de grado farmacopeico y/o farmacéutico. En un aspecto más de la invención, las composiciones de matriz polimérica comprenden componentes de ciertas especificaciones.

En un aspecto, las composiciones de matriz polimérica de la presente invención se pueden usar en el tratamiento de heridas, quemaduras y ciertas condiciones dermatológicas.

20 En otro aspecto de la presente invención, las composiciones de matriz polimérica comprenden un ingrediente activo. En este aspecto de la invención, las composiciones de matriz polimérica pueden usarse para suministro transdérmico, suministro tópico y suministro de liberación prolongada del ingrediente activo.

En algunos aspectos, las composiciones de matriz polimérica pueden usarse para el tratamiento de dolor musculoesquelético. Un aspecto más de la presente

invención se refiere al uso de las composiciones de matriz polimérica en el tratamiento de sequedad vaginal.

En un aspecto más, la presente invención se refiere a métodos para preparar composiciones de matriz polimérica estables de la presente invención.

5

### **Descripción detallada de la invención**

Los inventores determinaron que el producto Gel para Heridas IMP no podría ser formulado exitosamente toda vez que el producto estaba hecho a partir de hialuronato de sodio de origen natural "hialuronato de sodio natural" y debido a que el régimen de prueba fuera suficiente y las materias primas no eran de calidad suficiente. El hialuronato de sodio natural era producido a partir de crestas de gallo (que es una fuente de origen animal) y era de grado cosmético. Se encontró que el hialuronato de sodio natural era más propenso a contaminación microbiológica incluyendo aquella causada por la instalación de fabricación y el ambiente circundante. Esto llevó a la falla microbiológica del producto haciendo al producto inseguro y no útil. Más aún, el producto gel para heridas IMP usaba ingredientes que eran de grado insuficiente o inconsistente. Asimismo, las pruebas para determinar la calidad del Producto de Gel para Heridas IMP fueron insuficientes para asegurar un producto estable de calidad suficiente.

10

15

20

Los inventores descubrieron inesperadamente que las composiciones de matriz polimérica de hialuronato de sodio pueden formularse adecuadamente usando hialuronato de sodio bio-fermentado obtenido a partir de cepas de bacterias de *Streptococcus zooepidemicus* o *Bacillus subtilis*.

25

Los inventores determinaron además que composiciones de matriz polimérica de hialuronato de sodio pueden formularse adecuadamente usando ingredientes de calidad suficiente, es decir, ingredientes de grado farmacopeico (USP o

Ph. Eur.) y/o farmacéutico, incluyendo hialuronato de sodio bio-fermentado. Un

ingrediente o componente del grado farmacéutico, según se indica aquí, puede definirse como un ingrediente o un componente que tenga al menos 99% de pureza, de preferencia que no contenga aglutinantes, cargas, excipientes, colorantes o sustancias desconocidas.

- 5 En algunas modalidades, un ingrediente de grado farmacéutico además cumple con uno o más de los siguientes criterios: el ingrediente tiene un nivel de endotoxinas de 0.5 E.U/mg o menos (o 0.5 EU/ml o menos para ingredientes líquidos), el ingrediente tiene un recuento microbiano aeróbico total (TAMC) de menos de 100 ufc/g, (o menos de 100 ufc/ml para ingredientes líquidos), el ingrediente tiene un recuento total de levadura y
- 10 moho (TYMC) de menos de 10 ufc/g (o menos de 10 ufc/ml para ingredientes líquidos), el ingrediente tiene un contenido de ácido nucleico de 0.5% p/p o menos, y el ingrediente tiene un contenido de proteína de 0.3% p/p o menos. Los métodos para medir los niveles de endotoxinas, TAMC, TYMC, niveles de ácido nucleico y niveles de proteína serían conocidos por una persona experta en la técnica de los farmacéuticos. Un ingrediente
- 15 componente de grado farmacopeico se refiere a un grado de ingrediente con pruebas farmacopeicas completas adecuado para la USP (Farmacopea de Estados Unidos), NF (formulario nacional), BP (Farmacopea Británica) o Ph. Eur. (Farmacopea Europea), cumpliendo entonces con las normas de pureza química que son establecidas por estas autoridades de Farmacopea Nacional o Regional reconocidas. Típicamente, un
- 20 ingrediente o componente que es de grado farmacopeico también será de grado farmacéutico. Los métodos de ensayo validados para probar la cantidad de hialuronato de sodio y metilparabeno en las formulaciones, así como a través del cumplimiento con la prueba de endotoxinas bacterianas ("BET"), y los límites de pruebas microbiológicas, incluyendo para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y
- 25 *Salmonella* sp., así como el cumplimiento con otros parámetros, han sido usados para



confirmar la calidad de las formulaciones de la presente invención. Los presentes inventores han encontrado inesperadamente que las composiciones de acuerdo con la presente invención tienen estabilidad mejorada (es decir, la concentración de hialuronato de sodio en la formulación no varía en más de +/- 10% (p/p) con respecto a la cantidad original provista en la composición, a 40°C, 75% de humedad relativa (condiciones de estabilidad acelerada) durante un periodo de al menos 6 meses, y/o a 25°C, 60% de humedad relativa (condiciones de estabilidad a largo plazo) durante un periodo de al menos 18 meses), propiedades de sanación de heridas mejoradas y efectos de citotoxicidad reducidos con respecto a las composiciones comparables que comprenden hialuronato de sodio natural que puede obtenerse a partir de una fuente aviaria y componentes no grado farmacéutico y/o no grado farmacopeico (por ejemplo, Gel para Heridas IMP). Se cree que la estabilidad, propiedades de sanación de heridas y citotoxicidad de la composición de la invención son mejoradas con el uso de hialuronato de sodio bio-fermentado, e incluso mejoradas más mediante el uso de componentes que son de grado farmacopeico y/o farmacéutico.

Los inventores desarrollaron además un proceso para formular una composición de matriz polimérica que contiene una alta concentración (es decir, entre aproximadamente 1.5% p/p a alrededor de 3.5% p/p) de hialuronato de sodio y produjeron una composición de matriz polimérica estable que contiene una alta concentración de hialuronato de sodio de acuerdo con la presente invención. Además, en la presente se proporciona una formulación obtenida por el proceso.

En algunas modalidades, el proceso comprende las etapas de:

- a) añadir metilparabeno a agua y mezclar para producir una solución de metilparabeno,
- b) añadir hialuronato de sodio bio-fermentado a la solución de



metilparabeno y mezclar para producir una solución de hialuronato de sodio,

c) disolver por separado el polímero ~~no iónico, especialmente~~ hidroxixelulosa, en agua para producir una solución de polímero no iónica,

5 d) combinar la solución de hialuronato de sodio con la solución de polímero no iónica y mezclar para producir una solución de polímero no iónica de hialuronato de sodio homogénea,

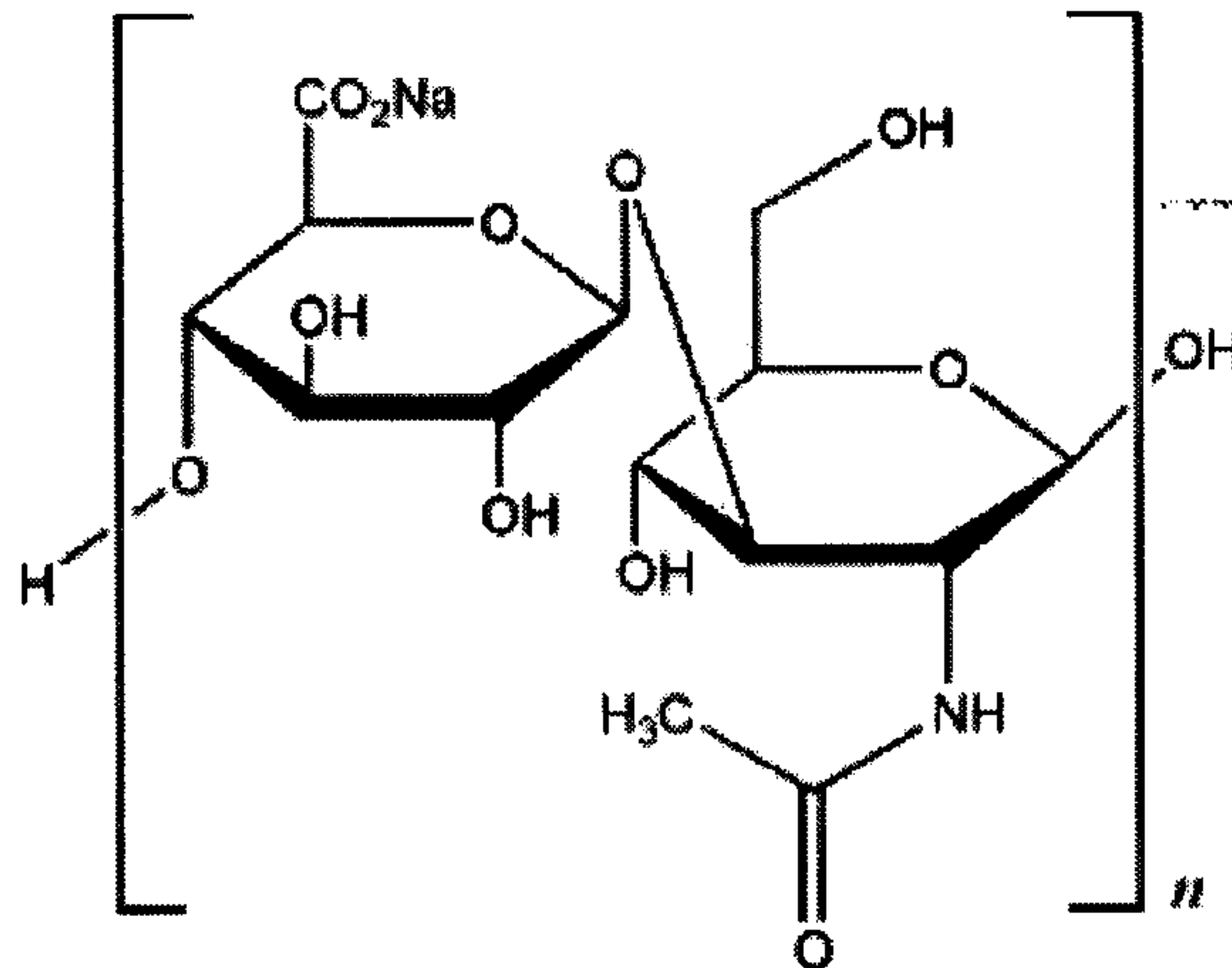
e) añadir polietilenglicol a la solución de polímero no iónica de hialuronato de sodio y mezclar para formar la composición de matriz polimérica.

10 Típicamente, la composición de matriz polimérica obtenida por el método comprende alrededor de 1.5% p/p a aproximadamente 3.5% p/p de hialuronato de sodio bio-fermentado y de aproximadamente 0.1% p/p a alrededor de 2.0% p/p de polímero no iónico, además de polietilenglicol, metilparabeno y agua.

15 El método puede comprender además una etapa de añadir al menos un ingrediente activo seleccionado de: ácido pantoténico, diclofenaco de sodio, niacina y glicerina.

20 Cada uno de los componentes usados en el proceso puede ser de grado farmacopeico y/o grado farmacéutico según se define aquí. De preferencia, todos los componentes de la composición son de grado farmacopeico y/o grado farmacéutico. Cada uno de los componentes también puede ser provisto en las cantidades definidas aquí y puede tener las propiedades (por ejemplo, pureza) definidas en la presente.

25 El hialuronato de sodio (CAS Número 9067-32-7, fórmula molecular  $[C_{13}H_{20}N_{11}Na]_n$ ) consiste en un polisacárido lineal, cuya unidad básica es un disacárido de ácido D-glucurónico y N-acetil-D-glucosamina enlazado por un enlace glucuronídico (1-3). Las unidades de disacárido son polimerizadas linealmente por enlaces hexosaminídicos (1-4), como se muestra en la fórmula 1:



10 El hialuronato de sodio es un polvo o agregado fibroso blanco o casi blanco y muy higroscópico. Es inoloro y el pH de la solución al 5% está en el intervalo de 5.0-8.5. El hialuronato de sodio es fácilmente soluble en agua fría e insoluble en solventes orgánicos. El hialuronato de sodio de alta calidad, es decir, BET  $\leq$  0.5 EU/g calidad microbiana, puede obtenerse a partir de proveedores comerciales.

15 El proceso para obtener hialuronato de sodio bio-fermentado puede variar, pero en general, la preparación incluye las siguientes etapas: fermentar cepas bacterianas de *Streptococcus zooepidemicus* seleccionadas; seleccionar el producto crudo de hialuronato de sodio obtenido a partir de la fermentación; purificar el producto crudo por filtración; precipitar hialuronato de sodio con un solvente orgánico; y secar. El hialuronato de sodio bio-fermentado obtenido de *Streptococcus zoopidemicus* está disponible  
 20 comercialmente de proveedores tales como QUFU, Freda y Contipro.

25 Como un ejemplo, la patente de E.U.A. No. 4,517,295 a Bracke et al., describe la preparación de ácido hialurónico en alto rendimiento a partir de bacterias de *Streptococcus* al fermentar las bacterias bajo condiciones anaeróbicas en un medio de crecimiento enriquecido con CO<sub>2</sub>, separar las bacterias del caldo resultante y aislar el ácido hialurónico de los constituyentes restantes del caldo. La separación de los



microorganismos a partir del ácido hialurónico es facilitada al tratar las bacterias con ácido tricloroacético. Después de la remoción de las células bacterianas y la concentración de los productos de fermentación de peso molecular más alto, el ácido hialurónico es aislado y purificado por precipitación, re-suspensión y re-precipitación.

5 Una fracción particular de hialuronato de sodio bio-fermentado que exhibe excelente formación de matriz de acuerdo con la presente invención es hialuronato de sodio que tiene un peso molecular promedio de entre aproximadamente 600,000 Daltons a alrededor de 800,000 Daltons. El hialuronato de sodio bio-fermentado que tiene un peso molecular promedio de 500,000 a 1,000,000 Daltons se ha encontrado también que es aceptable en las formulaciones de la presente invención.

10 Además de hialuronato de sodio bio-fermentado, las formulaciones de matriz polimérica de la presente invención incluyen un polímero no iónico. Los polímeros no iónicos adecuados para usarse en las formulaciones de la presente invención incluyen polivinilpirrolidonas, poloxámeros, copovidona, alcohol polivinílico, derivados de celulosa, polímeros a base de sorbitol, goma de algarrobo, goma guar, maltodextrina, copolímeros de vinilpirrolidona, poliacrilamidas, copolímeros de óxido de polietileno, ácidos poliacrílicos neutralizados, polisorbatos, etoxilados, polialcoholes, polietilenglicol, metoxi metoxipolietilenglicol (MPEG) y alfa, omega-dialquil-etoxilados, o mezclas de los mismos.

15 Las polivinilpirrolidonas adecuadas para usarse con la presente invención incluyen PVP K-90, PVP K-17, y copolímero de polivinil pirrolidona-acetato de vinilo (PVP-VA).

Los derivados de celulosa adecuados para usarse con la presente invención incluyen hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etil(hidroxietil)celulosa y metilcelulosa.

25 Los polímeros a base de sorbitol adecuados para usarse con la presente

invención incluyen Neosorb.

Los ácidos poliacrílicos adecuados para usarse con la presente invención incluyen, pero no están limitados a Carbopol 980 neutralizado, Carbopol 940 y Carbómero 981 (Carbómero 941 tipo viejo).

5 Los polisorbatos adecuados para usarse con la presente invención incluyen Polisorbato 20 (USP/Ph. Eur.), polisorbato 21, polisorbato 40 (USP/Ph.Eur.), polisorbato 60 (USP/Ph. Eur.), polisorbato 61, polisorbato 65, polisorbato 80 (USP/Ph. Eur.), polisorbato 81, polisorbato 85 y polisorbato 120.

10 La hidroxietilcelulosa ("HEC") es un polímero no iónico particularmente preferido para usarse con la presente invención.

Se cree que hay muchos de estos polímeros no iónicos que pueden usarse para formar exitosamente las formulaciones de matriz polimérica de la presente invención. De esta manera, en la presente invención se incluyen cualesquiera polímeros no iónicos que puedan formar exitosamente una matriz polimérica con hialuronato de sodio.

15 Otros ingredientes adecuados para usarse en la fabricación de las composiciones de matriz polimérica de la presente invención incluyen estabilizadores y cargas tales como metilparabeno, alcohol bencílico, polietilenglicol, metoxipolietilenglicol y agua purificada. De preferencia, los ingredientes usados en las composiciones de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentados de la presente invención se conforman a las normas farmacopeicas (USP o Ph. Eur.).

20 En una modalidad preferida, el hialuronato de sodio bio-fermentado usado en las composiciones de la presente invención es de calidad grado farmacopeico o farmacéutico. Muy preferiblemente, toda la materia prima usada en las formulaciones de la presente invención es de alta calidad microbiológica (es decir, de grado farmacopeico y/o farmacéutico). En contraste, en el Gel para Heridas IPM que comprende hialuronato

25

de sodio de origen animal, los componentes individuales no cumplen con las normas de grado farmacopeico y/o farmacéutico. La siguiente tabla 1 compara los cambios hechos en especificaciones de materia prima para la formulación usada en el producto Gel para Heridas IPM con la formulación de la presente invención.

5

Tabla 1. Cambios a especificaciones de materias primas usadas en la formulación de la presente invención en comparación con aquellas usadas en el producto Gel para Heridas IPM

Gel para Heridas IPM	Formulación bio-fermentada de hialuronato de sodio de la presente invención
Hialuronato de sodio	
Grado: Grado cosmético	Grado: Grado farmacéutico (Ph. Eur.)
	Acido nucleico: $\leq 0.5\%$ (Ph. Eur.)
Contenido de proteína $\leq 5\%$	Contenido de proteína $\leq 0.3\%$ (Ph. Eur.)
TYMC $\leq 50$ ufc (unidades formadoras de colonia)/g	TYM $\leq 10$ ufc/g (Ph. Eur.)
<i>E. coli</i> : negativo	<i>Staphilococcus aureus</i> : Ausencia (Ph. Eur.) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : Ausencia (Ph. Eur.) <i>Escherichia coli</i> : Ausencia (Ph. Eur.) <i>Salmonella sp.</i> : Ausencia (Ph. Eur.)

25

<b>Gel para Heridas IPM</b>	<b>Formulación bio-fermentada de hialuronato de sodio de la presente invención</b>
5	Prueba de Endotoxinas Bacterianas (BET) $\leq$ 0.5 IU/mg
<b>Hidroxietilcelulosa (HEC)</b>	
TAMC (recuento microbiano aeróbico total)	TAMC < 100 ufc/g (USP/Ph. Eur.)
10 <b>Polietilenglicol 200 (PEG 200)</b>	
PEG 200 o PEG 400	PEG 200  Límite de etilenglicol y dietilenglicol (combinado): $\leq$ 0.25% p/p (USP)
15	TAMC < 100 ufc/mL (USP)  TYMC $\leq$ 10 ufc/mL (USP)
<b>Metilparabeno</b>	
	TAMC < 100 ufc/mL (USP/Ph. Eur.)  TYMC $\leq$ 10 ufc/mL (USP/Ph. Eur.)
20 <b>Agua purificada</b>	
	TAMC < 100 ufc/mL (USP/Ph. Eur.)
	BET < 0.25 EU/mL (USP/Ph. Eur.)

El grado de PEG usado con Gel para Heridas IPM fue intermitentemente PEG-400 que puede tener reducida la estabilidad del producto. La matriz formada fue menos estable que la formulación de la presente invención. El PEG usado con la



modalidad preferida de las formulaciones de la presente invención es de mejor pureza ya que las sustancias restringidas, en particular, etilenglicol y dietilenglicol son bien controladas.

Opcionalmente, el PEG usado en formulaciones de la presente invención y específicamente los métodos para preparar las formulaciones, comprende etilenglicol y dietilenglicol en una cantidad combinada de menos de 0.25% p/p. De preferencia, el peso molecular promedio (promedio en masa y/o promedio en número) del PEG usado en las formulaciones de la presente invención y en los métodos para preparar las composiciones, es 200 Da. (Esto es denominado en adelante "grado PEG 200"). En algunas modalidades, el peso molecular promedio (promedio en masa y/o promedio en número) del PEG no es menor que 190 o más de 210. En algunas modalidades, la cantidad de PEG que tiene un peso molecular de al menos 400 Da es menor que 5, 4, 3, 2 ó 1% en peso en peso total del PEG. En algunas modalidades, el PEG está presente en la formulación en una cantidad de aproximadamente 0.5% a alrededor de 10% p/p, o de aproximadamente 1% a alrededor de 5% p/p, o de aproximadamente 2% a alrededor de 4% p/p, o aproximadamente 3% p/p.

El hialuronato de sodio usado con el Gel para Heridas IPM era de grado cosmético y no cumplía con los requisitos de grado farmacopeico y/o farmacéutico como los definidos aquí. En la modalidad preferida, la presente invención usa hialuronato de sodio de grado farmacéutico y/o grado farmacopeico con calidad consistente. De preferencia, el hialuronato de sodio tiene un bajo contenido de ácido nucleico y proteína (por ejemplo, un contenido de ácido nucleico de 0.5% p/p o menos y/o un contenido de proteína de 0.3% p/p o menos). En la modalidad preferida de la presente invención, el recuento microbiano TYMC se controla mejor (por ejemplo, 10 CFU/g o menos) y todos los microorganismos especificados son probados para su ausencia. Además, en la



modalidad preferida de la presente invención, BET se prueba y es 0.5 EU/mg o menos, y el contenido de proteína de hialuronato de sodio ha sido reducido significativamente (por ejemplo, de 5% p/p o menos para Gel para Heridas IPM a 03.% p/p o menos para la modalidad preferida de la presente invención).

5 Con respecto a la HEC usada en la modalidad preferida de la presente invención, hay un mejor control del recuento microbiano (por ejemplo, la HEC tiene un TAMC de menos de 100 ufc/g) que aquél con la HEC usada con el Gel para Heridas IPM (por ejemplo, el HEC tiene un TAMC de menos de <1,000 ufc/g) proporcionado por el proveedor de materia prima. En consecuencia, la formulación de la presente invención en la modalidad preferida se encontró que tenía una calidad significativamente mejor.

10 En la modalidad preferida de la presente invención, la materia prima metilparabeno es probada para pruebas TAMC y TYMC para asegurar que sólo materia prima de buena calidad se use en la fabricación de la formulación en la modalidad preferida de la presente invención. Por ejemplo, el TAMC y TYMC del metilparabeno es de preferencia de 10 ufc/ml o menos. El metilparabeno puede estar presente en las formulaciones de la presente invención en una cantidad de aproximadamente 0.01 a alrededor de 0.3% p/p, de aproximadamente 0.1 a alrededor de 0.3% p/p o aproximadamente 0.2% p/p.

15 Además, en la modalidad preferida de la presente invención, el agua purificada se controla mejor microbiológicamente al llevar a cabo pruebas adicionales TAC y BET. Por ejemplo, el TAMC de agua es 100 ufc/ml o menos, y/o la BET de agua es 0.25 EU/ml o menos.

20 La formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado es un gel claro, viscoso, inoloro y acuoso compuesto principalmente de hialuronato de sodio, una sal derivada de ácido hialurónico. La formulación de hialuronato de sodio bio-

25

fermentado es una matriz polimérica constituida de polímero cargado ~~negativamente~~, en particular, hialuronato de sodio, y un polímero no iónico, ~~tal como HEC~~. En otras palabras, el hialuronato de sodio (como un polímero cargado negativamente) forma parte de la matriz polimérica en combinación con un polímero no iónico, tal como HEC, y ayuda a mantener el ambiente húmedo a través de la matriz.

La concentración de hialuronato de sodio en la matriz polimérica es de aproximadamente 1.5% a alrededor de 3.5% p/p, o de aproximadamente 2% a alrededor de 3% p/p, o de aproximadamente 2.3% a 2.7% p/p, o aproximadamente 2.5% p/p. La concentración del polímero no iónico, que no es HEC, es de aproximadamente 0.1% p/p a alrededor de 2.0% p/p, de preferencia de alrededor de 0.5% a 1.5% p/p, y más preferiblemente de alrededor de 0.7% p/p a aproximadamente 1.3% p/p. En algunas modalidades, el polímero no iónico está presente en una cantidad de aproximadamente 1% p/p. La concentración de HEC puede ser de alrededor de 0.1% p/p a aproximadamente 2.0% p/p, o de alrededor de 0.1% p/p a aproximadamente 1.5% p/p, de preferencia de alrededor de 0.5% a 1.5% p/p, y más preferiblemente, de aproximadamente, 0.7% p/p a alrededor de 1.3% p/p.

De preferencia, los polímeros no iónicos tales como HEC son de grado farmacopeico o farmacéutico, como se definió arriba. Cuando polímeros no iónicos no están disponibles en grado farmacopeico o farmacéutico, se deben usar polímeros no iónicos de la mejor calidad posible.

La viscosidad de la formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado debe estar en los límites o intervalo aceptables de tal forma que la matriz sea estable y sea fácil de aplicar en la piel, herida u otro tejido. La formulación también debe tener una viscosidad que pueda manejarse fácilmente durante la fabricación y llenado. El intervalo de viscosidad ha sido investigado. Se determinó que la

formulación de la presente invención debe tener una viscosidad de aproximadamente 10,000 a 50,000 cps (cP) cuando se pruebe a temperatura ambiente (23°C, 77°F). El intervalo de pH terapéuticamente útil de la formulación se estableció en 5.0 a 7.0.

5 En una modalidad preferida, la composición de matriz polimérica de la presente invención puede comprender hialuronato de sodio bio-fermentado en una cantidad de aproximadamente 2.3 a alrededor de 2.7% p/p, polímero no iónico, de preferencia hidroxixelulosa, en una cantidad de aproximadamente 0.5 a alrededor de 1.5% p/p, polietilenglicol en una cantidad de alrededor de 1 a aproximadamente 4% p/p y metilparabeno en una cantidad de aproximadamente 0.1 a alrededor de 0.3% p/p.

10 Muy preferiblemente, la formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado comprende hialuronato de sodio (2.5%, p/p), HEC (1% p/p), metilparabeno (0.2% p/p), polietilenglicol (3% p/p) y agua purificada, USP (aproximadamente 93% p/p). En modalidades preferidas, todos los componentes/ingredientes son de grado farmacopeico y/o grado farmacéutico como se  
15 definió aquí. Los resultados de prueba encontraron que en una modalidad particular, la viscosidad promedio de esta formulación de hialuronato de sodio bio-fermentado es 30,000 cps, es decir, exactamente en medio del intervalo (10,000-50,000 cps), a temperatura ambiente. Se conoce bien que el peso molecular de hialuronato de sodio y la concentración de hialuronato de sodio tienen un efecto directo en la viscosidad del  
20 producto.

Las soluciones usadas para preparar los geles de la presente invención pueden prepararse de una variedad de maneras. El polímero no iónico tal como HEC puede ser disuelto en agua, mezclado con solución de hialuronato de sodio aniónica o cargada negativamente para formar la matriz de hialuronato de sodio/polímero no iónico, y  
25 luego el ingrediente activo opcional puede ser añadido o cargado al sistema.

El procedimiento de preparación puede implicar disolver un polímero iónico tal como HEC en agua a una baja velocidad (de aproximadamente 25 rpm o menos que aproximadamente 400 rpm) a velocidad media (alrededor de 400 rpm a menos de aproximadamente 2,000 rpm) durante pocas horas (aproximadamente 1 a alrededor de 2 horas).

Por separado, hialuronato de sodio puede añadirse lentamente a agua mientras se agita a alta velocidad, seguido por agitación a velocidad media (alrededor de 400 rpm a menos de aproximadamente 2,000 rpm) durante pocas horas (aproximadamente 2 horas), seguido por agitación a baja velocidad de aproximadamente 25 rpm a menos de aproximadamente 400 rpm durante una larga duración (nocturna, o alrededor de 8 horas a aproximadamente 15 horas) hasta que todo el polímero de hialuronato de sodio se haya disuelto en la mezcla y se haya formado una solución viscosa cristalina-transparente.

El polímero no iónico tal como solución HEC puede añadirse a la solución de hialuronato de sodio y mezclarse a velocidad media (de aproximadamente 400 rpm a menos de alrededor de 2,000 rpm) seguida por mezcla a velocidad baja a media (de aproximadamente 25 rpm a menos de alrededor de 2,000 rpm) durante un periodo largo (alrededor de 4 horas a aproximadamente 15 horas) hasta que se produzca una solución homogénea.

Emulsionantes, agentes de suspensión, solventes (tales como polietilenglicol 200), antioxidantes (tales como metabisulfito de sodio) y conservadores farmacéuticamente aceptables convencionales (tales como alcohol bencílico, metilparabeno) pueden ser luego añadidos a este sistema.

Cuando se formula con un ingrediente activo como un sistema para la liberación transdérmica o prolongada del ingrediente activo, usando técnicas seguras, el

ingrediente activo (por ejemplo, 3% de diclofenaco de sodio) puede ser añadido lentamente a la mezcla de la matriz de hialuronato de sodio/polímero no iónico anterior mientras se incrementa la velocidad a alta velocidad (de aproximadamente 2,000 rpm a alrededor de 3,000 rpm), y la adición de la cantidad completa del ingrediente activo debe completarse dentro de una duración corta (aproximadamente 15 minutos).

Una vez que todos los componentes se mezclan juntos, tal como al mezclar a baja velocidad (de aproximadamente 25 rpm a menos de alrededor de 400 rpm) a media velocidad (de aproximadamente 400 rpm a menos de alrededor de 2,000 rpm) durante aproximadamente 2 horas a alrededor de 20 horas, el sistema es llenado en tubos. El sistema resultante es un gel inoloro, claro a ligeramente turbio, incoloro y viscoso, que se encuentra estable bajo almacenamiento durante pocos años (de 18 meses a 4 años).

De preferencia, una formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado de acuerdo con la invención se prepara como sigue. Primero, se añade metilparabeno a agua en un recipiente adecuado y se mezcla a velocidad media (de aproximadamente 400 rpm a menos de alrededor de 2,000 rpm) durante pocas horas (aproximadamente 2 horas). Se asegura que metilparabeno se disuelva completamente. Luego se añade lentamente hialuronato de sodio en un flujo uniforme a la mezcla gradualmente incrementando la velocidad de agitación de velocidad media (de aproximadamente 400 rpm a menos de alrededor de 2,000 rpm) a velocidad alta (de aproximadamente 2,000 rpm a menos de alrededor de 3,000 rpm) mientras la mezcla se espesa y la centrifugación permanece mientras se carga hialuronato de sodio en un recipiente adecuado (durante aproximadamente 1 hora). Se mezcla durante pocas horas (aproximadamente 2 horas) a velocidad media (de aproximadamente 400 rpm a menos de alrededor de 2,000 rpm). Se continúa la mezcla a baja velocidad (de aproximadamente 25 rpm a menos de alrededor de 400 rpm) por una larga duración (aproximadamente 8



horas) hasta que todo el polímero de hialuronato de sodio de sodio se haya disuelto en la mezcla y se haya formado una solución viscosa cristalina-transparente.

5 En un recipiente separado se disuelve la HEC (por ejemplo, 1%) en agua purificada mientras se agita a velocidad media (de aproximadamente 400 rpm a menos de alrededor de 2,000 rpm) y se mezcla bien. Se continúa agitando durante pocas horas (alrededor de 1 a aproximadamente 2 horas).

10 La solución de HEC resultante se añade a la solución de hialuronato de sodio y se mezcla a velocidad media (de aproximadamente 400 rpm a menos de alrededor de 2,000 rpm) seguida por velocidad baja (de aproximadamente 25 rpm a menos de alrededor de 400 rpm) durante un largo periodo (aproximadamente 4 horas) hasta que se produzca una solución homogénea.

15 Se añade polietilenglicol a la mezcla mientras se mezcla a velocidad media (de aproximadamente 400 rpm a menos de alrededor de 2,000 rpm). Se continúa mezclando a velocidad media durante aproximadamente 1 hora. Se reduce la velocidad y se continúa mezclando a baja velocidad (de aproximadamente 25 rpm a menos de alrededor de 400 rpm) durante pocas horas (mínimo de aproximadamente 3 horas). El gel global puede ser luego llenado en tubos o botellas y tapado.

Se proporciona además una composición de matriz polimérica obtenida por este método.

20 En algunas modalidades, las formulaciones de la invención como las definidas aquí comprenden además un ingrediente activo. Así, los métodos para preparar las formulaciones definidas en la presente pueden comprender una etapa adicional de añadir un ingrediente activo.

25 Por ejemplo, se proporciona específicamente una composición de matriz polimérica estable que comprende 1.5% p/p de hialuronato de sodio bio-fermentado, 1.0%

p/p de hidroxietilcelulosa, 3.0% p/p de polietilenglicol, 0.2% p/p de metilparabeno y 0.5% p/p de ácido pantoténico y agua. De preferencia, cada componente es de grado farmacopeico y/o de grado farmacéutico. Muy preferiblemente, el hialuronato de sodio bio-fermentado es de grado farmacéutico de acuerdo con la farmacopea europea, tiene un contenido de ácido nucleico de menos que o igual a 0.5%, tiene un contenido de proteína de menos que o igual a 0.3%, TYMC menor que o igual a 10 ufc/g, puntuación BET de menos que o igual a 0.5% IU/mg, y prueba ausente para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*; la hidroxietilcelulosa tiene un TAMC de menos de 100 ufc/g; el polietilenglicol es de grado PEG 200 y tiene un contenido combinado de etilenglicol y dietilenglicol de menos que o igual a 0.25%, TAMC de menos que 100 ufc/mL y TYMC menor que o igual a 10 ufc/mL; el metilparabeno tiene un TAMC de menos que 100 ufc/mL y TYMC menor que o igual a 10 ufc/mL; y el agua es purificada con un TAMC menor que 100 ufc/mL y una puntuación BET de menos de 0.25 EU/mL.

15 Un método para fabricar tal composición comprende las etapas de:

añadir metilparabeno a agua y mezclar a velocidad media durante aproximadamente 2 horas hasta que se disuelva completamente para producir una solución de metilparabeno;

20 añadir hialuronato de sodio fermentado a la solución de metilparabeno en un flujo uniforme incrementando gradualmente la velocidad de agitación de media a alta al espesarse la mezcla y el centrifugado continúa mientras se añade hialuronato de sodio;

mezclar durante aproximadamente 2 horas a velocidad media seguido por mezcla a baja velocidad aproximadamente 8 horas a 15 horas;

25 por separado, disolver hidroxietilcelulosa en agua mientras se agita a velocidad media y se mezcla bien;

agitar la mezcla de hidroxietilcelulosa durante aproximadamente  
alrededor de 2 horas para producir una solución de hidroxietilcelulosa;

añadir la solución de hidroxietilcelulosa a la solución de hialuronato de sodio;

5 mezclar a velocidad media hasta que se produzca una solución homogénea, seguido por mezcla a velocidad media a alrededor de 8 horas a 15 horas;

añadir polietilenglicol a la solución de hidroxietilcelulosa y hialuronato de sodio mientras se mezcla a velocidad media durante aproximadamente 1 hora;

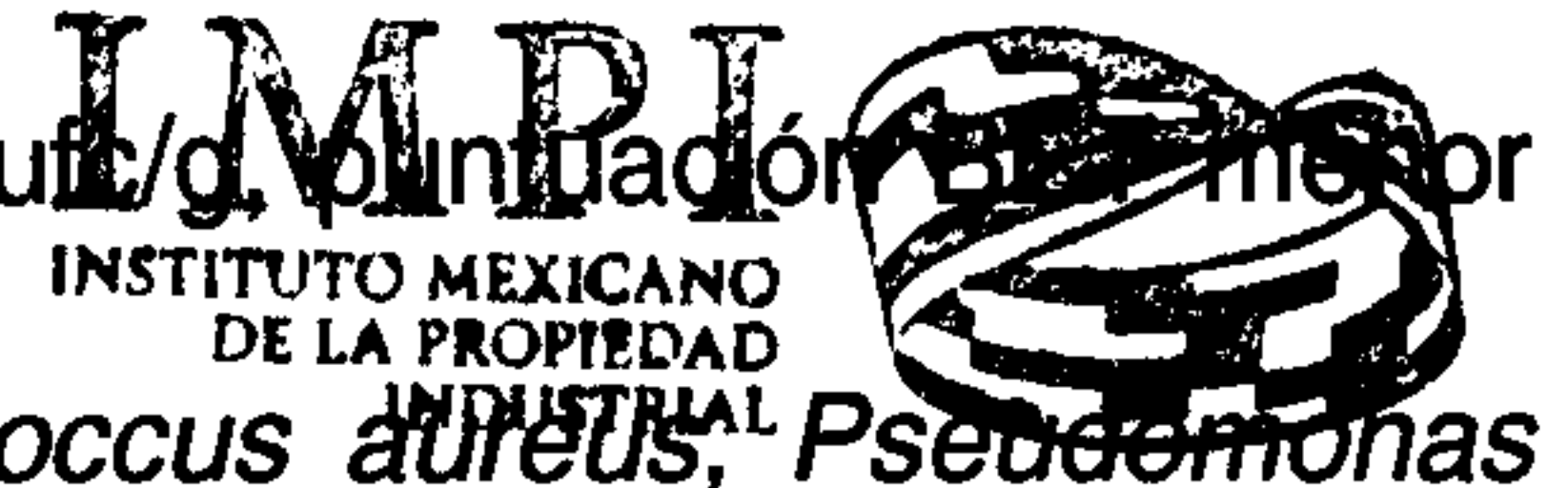
10 añadir ácido pantoténico y mezclar bien a velocidad media durante aproximadamente 2 horas hasta que se disuelva y el gel sea homogéneo. Las velocidades "baja", "media" y "alta" se definieron arriba.

Se proporciona además una composición de matriz polimérica obtenida mediante este método.

15 La composición de matriz polimérica estable que comprende 2.3% p/p de hialuronato de sodio bio-fermentado, 0.7% p/p de hidroxietilcelulosa, 10% p/p de metoxipolietilenglicol, 0.3% p/p de metilparabeno, 3.0% p/p de diclofenaco sódico y agua como se define en la presente o se obtiene mediante el método descrito aquí se puede usar en el tratamiento de piel dañada y/o en el tratamiento de dermatitis atópica.

20 Se proporciona además una composición de matriz polimérica estable que comprende: 1.5% p/p de hialuronato de sodio bio-fermentado, 0.7% p/p de hidroxietilcelulosa, 3% p/p de polietilenglicol, 0.2% p/p de metilparabeno, 0.85% p/p de niacina, 3% p/p de glicerina y agua. De preferencia, cada componente es de grado farmacopeico o grado farmacéutico. Muy preferiblemente, el hialuronato de sodio bio-fermentado es de grado farmacéutico de acuerdo con la farmacopea europea, tiene un  
25 contenido de ácido nucleico de menos que o igual a 0.5%, tiene contenido de proteína de





menos que o igual a 0.3%, TYMC menor que o igual a 10 ufc/g, puntuación BET menor que o igual 0.5 IU/mg, y prueba ausente para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp., la hidroxietilcelulosa tiene un TAMC de menos de 100 ufc/g; el metilparabeno tiene un TAMC de menos que 100 ufc/mL y TYMC de menos de o igual a 10 ufc/mL; y el agua es purificada con un TAMC de menos de 100 ufc/mL y una puntuación BET menor que 0.25 EU/mL.

Un método para hacer tal composición comprende las etapas de:

añadir metilparabeno a agua y mezclar a velocidad media durante aproximadamente 2 horas hasta disolver completamente para producir una solución de metilparabeno;

añadir hialuronato de sodio bio-fermentado a la solución de metilparabeno en un flujo uniforme gradualmente incrementando la velocidad de agitación de media a alta al espesarse la mezcla y se continúa centrifugando hasta que se añada hialuronato de sodio;

mezclar durante aproximadamente 2 horas a velocidad media seguido por mezcla a baja velocidad durante aproximadamente 8 horas hasta que todo el hialuronato de sodio se haya disuelto para producir una solución de hialuronato de sodio;

por separado, disolver hidroxietilcelulosa en agua mientras se agita a baja a media velocidad y se mezcla bien;

agitar la mezcla de hidroxietilcelulosa durante aproximadamente 1 a 2 horas para producir una solución de hidroxietilcelulosa;

añadir la solución de hidroxietilcelulosa a la solución de hialuronato de sodio;

mezclar a velocidad media durante aproximadamente 10 a alrededor de 15 horas hasta que se produzca una solución homogénea;

añadir metoxipolietilenglicol a la solución de hialuronato de

hidroxietilcelulosa mientras se mezcla a alta velocidad;

mezclar a velocidad media durante alrededor de 3 a aproximadamente 4 horas;

5 durante un periodo de aproximadamente 15 minutos, añadir lentamente diclofenaco de sodio mientras se mezcla a alta velocidad; y

mezclar a velocidad media durante alrededor de 15 a 20 horas. Las velocidades "baja", "media" y "alta" son como las definidas arriba.

10 Se proporciona además una composición de matriz polimérica obtenida por este método.

15 La composición de matriz polimérica estable que comprende: 2.3% p/p hialuronato de sodio bio-fermentado, 0.7% p/p de hidroxietilcelulosa, 10% p/p de metoxipolietilenglicol, 0.3% p/p de metilparabeno, 3.0% p/p de diclofenaco sódico y agua como se define en el presente o se obtiene por el método definido aquí, puede usarse para tratar queratosis actínica y/o para tratar dolor musculoesquelético.

20 Se proporciona además una composición de matriz polimérica estable que comprende: 1.5% p/p de hialuronato de sodio bio-fermentado, 0.7% p/p de hidroxietilcelulosa, 3% p/p de polietilenglicol, 0.2% p/p de metilparabeno, 0.85% p/p niacina, 3% p/p de glicerina y agua. De preferencia, cada componente es de grado farmacopeico o grado farmacéutico. Muy preferiblemente, el hialuronato de sodio bio-fermentado es de grado farmacéutico de acuerdo con la farmacopea europea, tiene contenido de ácido nucleico menor que o igual a 0.5%, tiene contenido de proteína menor que o igual 0.3%, TYMC menor que o igual a 10 ufc/g, puntuación BET menor que o igual a 0.5 IU/mg, y prueba ausente para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp., la hidroxietilcelulosa tiene un TAMC menor que 100

25

ufc/g; el polietilenglicol es de grado PEG 200 y tiene un contenido combinado de etilenglicol y dietilenglicol menor que o igual a 0.25%, TAMC menor que 100 ufc/mL y TYMC menor que o igual a 10 ufc/mL; el metilparabeno tiene un TAMC menor que 100 ufc/mL y TYMC menor que o igual a 10 ufc/mL, el agua es purificada con un TAMC menor que 100 ufc/mL y una puntuación BET menor que 0.25 EU/mL.

Un método para fabricar tal composición comprende las etapas de:

añadir metilparabeno a agua y mezclar a velocidad media durante aproximadamente 2 horas hasta que se disuelva completamente para producir una solución de metilparabeno;

añadir lentamente hialuronato de sodio bio-fermentado a la solución de metilparabeno en un flujo uniforme mientras se incrementa gradualmente la velocidad de agitación de media a alta al espesarse la mezcla y se permanece centrifugando mientras se añade hialuronato de sodio;

mezclar durante aproximadamente 2 horas a velocidad media seguido por mezcla a baja velocidad alrededor de 8 horas a 15 horas hasta que todo el hialuronato de sodio se haya disuelto para producir una solución de hialuronato de sodio;

por separado, disolver hidroxietilcelulosa en agua mientras se agita a velocidad baja a media y mezclar bien;

agitar la mezcla de hidroxietilcelulosa durante aproximadamente 1 alrededor de 2 horas para producir una solución de hidroxietilcelulosa;

añadir la solución de hidroxietilcelulosa a la solución de hialuronato de sodio;

mezclar a velocidad media aproximadamente 8 horas a 15 horas para producir una solución homogénea de hialuronato de sodio e hidroxietilcelulosa;

añadir polietilenglicol a la solución de hialuronato de sodio e



hidroxietilcelulosa;

mezclar a velocidad media durante aproximadamente 2.5 horas;

añadir niacina y glicerina; y

agitar a baja velocidad durante aproximadamente 2 horas. Las velocidades

5 “baja”, “media” y “alta” son como se definió arriba.

Se proporciona además una composición de matriz polimérica obtenida por este método.

10 La composición de matriz polimérica estable que comprende 1.5% p/p de hialuronato de sodio fermentado, 0.7% p/p de hidroxietilcelulosa, 3% p/p de polietilenglicol, 0.2% p/p de metilparabeno, 0.85% p/p de niacina, 3% p/p de glicerina y agua, como se definió en la presente o se obtiene por el método definido arriba puede usarse en el tratamiento de sequedad vaginal.

15 Las composiciones de matriz polimérica formuladas con hialuronato de sodio bio-fermentado de la presente invención se pueden usar en la fabricación de composiciones farmacéuticas, composiciones de dispositivos médicos, composiciones de productos de salud natural y composiciones de suplemento dietario. En aplicaciones tópicas, las composiciones de matriz polimérica de la presente invención sirven para mantener un ambiente húmedo de herida. El mantenimiento de un ambiente de herida húmedo es ampliamente reconocido como contribuyendo positivamente al proceso de sanación de heridas y al alivio a partir de ciertas condiciones dermatológicas. Las 20 composiciones de matriz polimérica formuladas con hialuronato de sodio bio-fermentado de la presente invención se pueden usar para aplicaciones tópicas o aplicaciones transdérmicas. Por ejemplo, las composiciones de matriz polimérica formuladas con hialuronato de sodio bio-fermentado de la presente invención se pueden usar para 25 aplicación tópica en el tratamiento de muchos tipos de úlceras (heridas), incluyendo

estasis venosa, heridas diabéticas y úlceras diabéticas, e incisiones postoperatorias, y tratamientos antienviejamiento. La invención ha mostrado ser específicamente efectiva en heridas difíciles de sanar. En particular, las composiciones de la presente invención son efectivas para promover la sanación de incisiones quirúrgicas en pacientes diabéticos. Por ejemplo, las composiciones de la presente invención son efectivas para promover la sanación de incisiones quirúrgicas en pacientes diabéticos después de amputaciones de dedos, particularmente en pacientes diabéticos que sufren de osteomielitis.

Más particularmente, las composiciones de matriz polimérica formuladas con hialuronato de sodio bio-fermentado de la presente invención han mostrado ser útiles en aplicaciones tópicas para el manejo/tratamiento de condiciones dermatológicas, quemaduras (quemaduras de primer grado), abrasiones menores, cortes menores y en ayudar a aliviar irritaciones en piel cerosa reseca en asociación con condiciones de piel reseca. Más aún, las composiciones de matriz polimérica formuladas con hialuronato bio-fermentado de la presente invención han mostrado ser útiles en aplicaciones tópicas para el manejo de heridas exudantes tales como úlceras de pierna, úlceras de presión, úlceras diabéticas, heridas quirúrgicas (postoperatorias y sitios donantes), heridas mecánica o quirúrgicamente desbridadas, quemaduras de segundo grado, y en el manejo y alivio de quemaduras, comezón y dolor asociados con varios tipos de dermatosis, incluyendo dermatitis atópica, dermatitis por contacto alérgica y radio-dermatitis.

En otros aspectos, las composiciones de matriz polimérica formuladas con hialuronato de sodio bio-fermentado de la presente invención también se pueden usar en la fabricación de un sistema para un suministro de liberación prolongada de un agente activo, y en la fabricación de un sistema para aplicación tópica, suministro tópico o suministro transdérmico de un ingrediente activo.

En aspectos adicionales, las composiciones de matriz polimérica formuladas con hialuronato de sodio bio-fermentado de la presente invención se pueden usar en la fabricación de lubricantes personales para usarse en el manejo de síntomas de disfunción sexual femenina.

5 Cuando se formula con un ingrediente activo como un sistema para el suministro transdérmico de un ingrediente activo, se cree que la formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-formulada forma una matriz que microencapsula, suspende y/o atrapa el ingrediente activo de tal forma que cuando sea administrada, sea liberada lentamente en el sistema circulatorio sistémico o tejido muscular proporcionando un método para suministrar un ingrediente activo a un sitio afectado en el cuerpo a través de la piel.

10 El ingrediente activo puede ser añadido ya sea directamente a la solución o gel homogéneo de hialuronato de sodio y un polímero no iónico tal como HEC o se puede disolver o agregar por separado en agua antes de la adición a la solución o gel homogéneo de hialuronato de sodio y un polímero no iónico tal como HEC y se mezcla bien. El ingrediente activo debe ser solubilizado en la solución de matriz polimérica con el fin de administrarse tópicamente. Los excipientes farmacéuticamente aceptables convencionales bien conocidos por aquellos expertos en la técnica, tales como tensioactivos, agentes de suspensión, emulsionantes, potenciadores osmóticos, extensores y diluyentes, modificadores de pH así como fragancias, colorantes, saborizantes y otros aditivos pueden añadirse a este sistema. Un material efectivo y particularmente no limitativo para disolver fármacos insolubles en agua es metoxipolietilenglicol (MPEG). Una vez que todos los componentes se mezclan juntos, durante velocidad media por 1 a 4 horas, el sistema es llenado en tubos o botellas, esterilizado, si se requiere, y almacenado para uso futuro.

15

20

25

Las formulaciones de esta invención formuladas con un ingrediente activo para aplicación tópica, o para suministro tópico de un ingrediente activo o suministro transdérmico de un ingrediente activo pueden usarse potencialmente para tratar una variedad de condiciones y estados físicos en mamíferos y animales. Estos sistemas pueden tener una aplicación particular al manejo del dolor, en particular al tratamiento y alivio del dolor asociado con cualquier enfermedad, condición o estado físico.

Sin ser limitados al dolor específico que esté siendo tratado, las preparaciones de esta invención formuladas con un ingrediente activo para aplicación/suministro tópico o para suministro transdérmico pueden tratar los siguientes lugares o fuentes de dolor no limitativos debajo del nivel dérmico de la piel, incluyendo, pero no limitados a rodillas, tobillos, manos, pies y cuello.

Además de tratar trastornos asociados con dolor debajo del nivel dérmico de la piel, las preparaciones de esta invención formuladas con un ingrediente activo para aplicación/suministro tópico o para suministro transdérmico se pueden usar para tratar una amplia variedad de trastornos dermatológicos así como muchos tipos de úlceras (heridas) incluyendo estasis venosas y heridas diabéticas. La invención ha demostrado ser especialmente efectiva en heridas difíciles de sanar. Ejemplos de trastornos no limitativos que pueden ser tratados potencialmente con las preparaciones de esta invención formuladas con un ingrediente activo para aplicación tópica o suministro transdérmico incluyen condiciones de dermatitis tales como: dermatitis por contacto; dermatitis atópica; radio-dermatitis; dermatitis seborreica; dermatitis numular; dermatitis crónica de manos y pies; dermatitis exfoliante generalizada; dermatitis por estasis y dermatitis de rascado localizado; infecciones bacterianas de la piel, tales como: enfermedades estafilocócicas de la piel, síndrome de piel escalada estafilocócica; eripielas, foliculitis; furúnculos; carbúnculos; hidradenitis supurativa; infecciones

paroniciales y eritrasma; infecciones fúngicas superficiales tales como: ~~infecciones por~~  
 dermatofitos; infecciones por levaduras; candidiasis y tinea ~~versicolor; infecciones~~  
 parasitarias de la piel tales como: sarna, pediculosis y erupción serpiginosa; trastornos de  
 folículos pilosos y glándulas sebáceas tales como: acné; rosácea; dermatitis perioral;  
 5 hipertrichosis; alopecia; pseudofoliculitis barbae; y quiste queratinoso; enfermedades  
 papulares escamantes, tales como: psoriasis; pitiriasis rósea y líquen plano; llagas por  
 presión; tumores benignos y tumores malignos.

Una amplia variedad de ingredientes activos que pueden administrarse  
 tópicamente se pueden usar en el sistema de suministro tópico o transdérmico de acuerdo  
 10 con esta invención. Estos pueden incluir fármacos de todas las principales categorías, y  
 sin limitación, por ejemplo, anestésicos incluyendo benzocaína, tetracaína, mepivacaína,  
 prilocaína, etidocaína, bupivacaína y lidocaína; analgésicos, tales como acetaminofén,  
 ibuprofeno, fluriprofeno, quetoprofeno, voltaren (patente de E.U.A. No. 3,652,762),  
 fenacetina y salicilamida; anti-inflamatorios no esteroides (AINES) seleccionados del  
 15 grupo que consiste en naproxeno, acetaminofén, ibuprofeno, flurbiprofeno, quetoprofeno,  
 fenacetina, salicilamida e indometacina; antibióticos incluyendo amebicidas, amplio y  
 mediano espectro, medicaciones fúngicas, monobactamas y agentes virales e incluyendo  
 específicamente tales como eritromicina, penicilina y cefalosporinas y sus derivados;  
 fármacos para el sistema nervioso central tales como tioridazina, diazepam, meclizina,  
 20 mesilatos ergoloides, clorpromazina, carbidopa y levodopa; sales metálicas tales como  
 cloruro de potasio y carbonato de litio; minerales seleccionados del grupo que consiste en  
 hierro, cromo, molibdeno y potasio; inmunomoduladores; inmunosupresores;  
 preparaciones de tiroides tales como hormona tiroide sintética, y tiroxina de sodio;  
 esteroides y hormonas incluyendo ACTH, anabólicos, combinaciones de endrógenos y  
 25 estrógenos, andrógenos, corticoides y analgésicos, estrógenos, glucocorticoides,



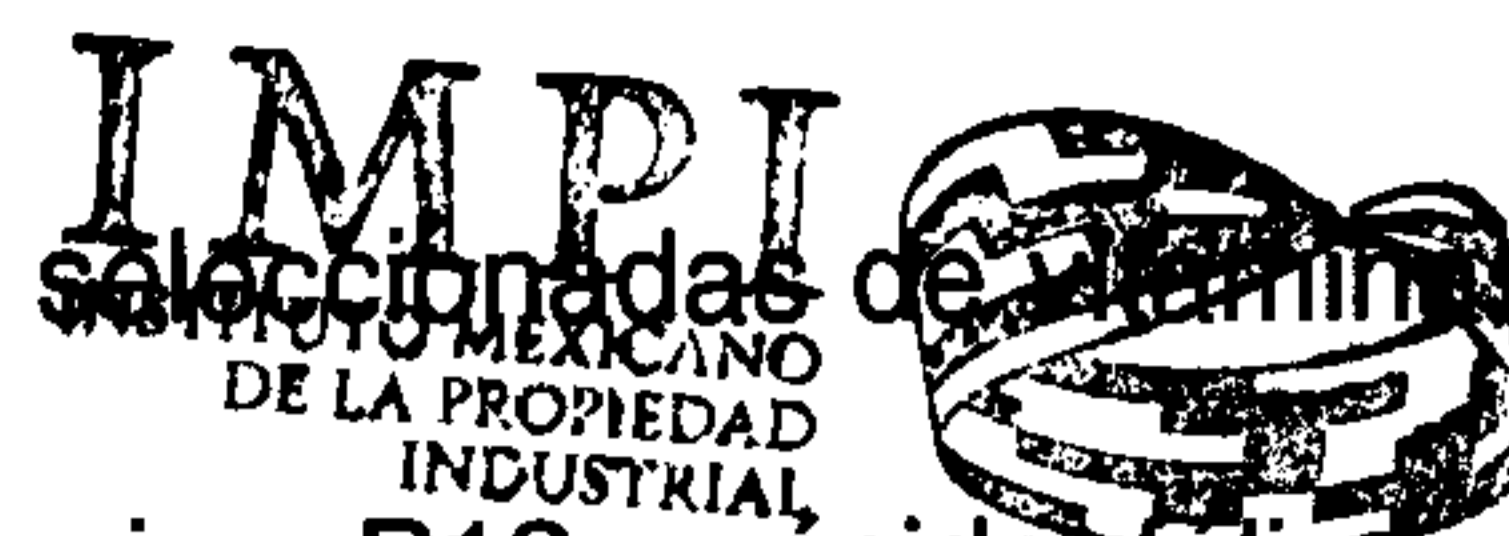
gonadotropina, liberación de gonadotropina, hormona de crecimiento humano, hipocalcémica, menotropinas, paratiroides, progesterona, ~~progestógeno, combinaciones~~ de progestógeno y estrógeno, compuestos tipo somatostasis, urofolitropina, vasopresina y otros; y vitaminas seleccionadas de vitaminas solubles en agua tales como complejo B que incluye vitamina B5 y B3 (niacina), vitamina C, vitamina B12 y ácido fólico y formulaciones veterinarias.

Las dosis pueden variar de paciente en paciente dependiendo del tipo y severidad de la condición que esté siendo tratada y del ingrediente activo que esté siendo administrado. Generalmente, dosis de 1 ml a 75 ml pueden ser administradas con dosis preferidas usando 2 a 25 ml del sistema de matriz gelificado.

Cuando se formula con otro ingrediente activo como un sistema para la liberación prolongada de un ingrediente activo, la formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-formulada puede permitir que un nivel terapéutico efectivo de un ingrediente activo sea administrado una vez durante al menos un intervalo de 24 horas a varios días. Se cree que la formulación de matriz polimérica en hialuronato de sodio bio-formulada forma una matriz que microencapsula, suspende y/o atrapa al ingrediente activo de tal manera que cuando se administre sea liberado lentamente en el sistema circulatorio sistémico o tejido muscular proporcionando una velocidad de liberación de ingrediente activo prolongada o sostenida.

Se puede usar una amplia variedad de ingredientes activos en el sistema de suministro prolongado de acuerdo con esta invención. Estos pueden incluir fármacos de todas las categorías principales, y sin limitación, por ejemplo, anestésicos incluyendo aquellos usados en aplicaciones caudales, epidurales, de inhalación, inyectables, retrobulbares y espinales, tales como bupivacaína y lidocaína; analgésicos, tales como acetaminofén, ibuprofeno, fluriprofeno, quetoprofeno, voltaren (patente de E.U.A. No.

3,652,762), fenacetina y salicilamida; anti-inflamatorios seleccionados del grupo que  
consiste en naproxeno e indometacina; antihistamínicos, ~~tales como maleato de~~  
clorfeniramina, tartrato de fenindamina, maleato de pirilamina, succinato de doxilamina,  
5 citrato de feniltoloxamina, clorhidrato de difenhidramina, prometazina, maleato de  
bromfeniramina, maleato de dexbromfeniramina, fumarato de clemastina y triprolidina;  
antitusivos seleccionados del grupo que consiste en bromhidrato de dextrometorfano y  
guaifenesina; expectorantes tales como guaifenesina; descongestionantes, tales como  
clorhidrato de fenilefrina, clorhidrato de fenilpropanolamina, clorhidrato de pseudoefedrina,  
efedrina; antibióticos incluyendo amebicidas, de amplio y medio espectro, medicaciones  
10 fúngicas, monobactamas y agentes virales y específicamente incluyendo aquellos tales  
como eritromicina, penicilina y cefalosporinas y sus derivados; broncodilatadores tales  
como teofilina, albuterol y terbutalina; preparaciones cardiovasculares tales como  
diltiazem, propranolol, nifedipino y clonidino incluyendo agonista de adrenoreceptor alfa,  
agente bloqueador de receptor alfa, agente bloqueador de receptor alfa y beta, inhibidores  
15 de enzima convertidora de angiotensina, agentes beta bloqueadores, bloqueador de  
canales de calcio y glicósidos cardiacos; fármacos para el sistema nervioso central tales  
como tioridazina, diazepam, meclizina, mesilatos ergoloides, clorpromazina, carbidopa y  
levodopa; sales metálicas tales como cloruro de potasio y carbonato de litio; minerales  
seleccionados del grupo que consiste en hierro, cromo, molibdeno y potasio;  
20 inmunomoduladores; inmunosupresores; preparaciones tiroides tales como hormona  
tiroides sintética y tiroxina de sodio; esteroides y hormonas incluyendo ACTH, anabólicos,  
combinaciones de andrógenos y estrógenos, andrógenos, corticoides y analgésicos,  
estrógenos, glucocorticoides, gonadotropina, liberación de gonadotropina, hormona de  
crecimiento humana, hipocalcémico, menotropinas, paratiroides, progesterona,  
25 progestógeno, combinaciones de progestrógeno y estrógeno, compuestos tipo



somatostatina, urofolitropina, vasopresina y otros; y vitaminas seleccionadas de vitaminas solubles en agua tales como complejo B, vitamina C, vitamina B12 y ácido fólico y formulaciones veterinarias. Las formas de dosificación también pueden incluir el uso de bupivacaína, lidocaína, vitamina B12, metilprednisolona y adenosin-5-monofosfato de sodio.

El ingrediente activo puede ser añadido directamente a la solución o gel homogéneo de hialuronato de sodio y un polímero no iónico tal como HEC o de otro modo se puede disolver o desembolsar por separado en agua antes de su adición a la solución homogénea o gel de hialuronato de sodio y un polímero no iónico tal como HEC. Los excipientes farmacéuticamente aceptables convencionales se conocen bien por aquellos expertos en la técnica, tales como tensioactivos, agentes de suspensión, emulsionantes, potenciadores osmóticos, extensores y diluyentes, modificadores de pH así como fragancias, colorantes, saborizantes y otros aditivos que puedan añadirse a este sistema. Una vez que todos los componentes se mezclan juntos, durante velocidad media por 1 a 4 horas, el sistema se llena en tubos o botellas, se esteriliza y se almacena para uso futuro.

La forma de dosificación de esta invención, en forma de solución o suspensión, se puede usar tópicamente por inyección intramuscularmente, epiduralmente o subcutáneamente. Las dosis pueden variar de paciente en paciente dependiendo del tipo y severidad de la condición que esté siendo tratada y del fármaco que esté siendo administrado. El ingrediente activo puede ser solubilizado en la solución de matriz polimérica con el fin de ser administrado tópicamente.

Las formulaciones de esta invención formuladas de acuerdo con un ingrediente activo para el suministro prolongado de un ingrediente activo pueden usarse potencialmente para tratar una variedad de condiciones animales y estados físicos. Estos sistemas pueden tener potencialmente aplicación particular al manejo de dolor, en



particular el tratamiento y alivio de dolor asociado con cualquier condición de enfermedad o estado físico.

Sin ser limitados a un dolor específico que este siendo tratado, las preparaciones de esta invención cuando se formulan con un ingrediente activo para el suministro prolongado de un ingrediente activo pueden tratar potencialmente los siguientes lugares o fuentes de dolor no limitativos: abdominal, tal como en apendicitis, dismenorrea, musculoesquelético, pélvico, úlcera péptica, psicogénico y urológico; agudo; brazo; cabeza y cuello; fibromialgia; pie; y pierna y talón; dolor isquémico tal como en miocardio, arterial periférico, espalda baja, en fibromiositis del prolapso válvula vitral, en infarto de miocardio, síndrome de dolor miofacial (fibromialgia, fibromiositis), cuello, neuropático, anomalía de neurotransmisores, nociceptivo y dolor nocturno; pélvico; pericardiaco; en enfermedad arterial periférica; extremidades fantasma; pleurítico; polineuropatía; síndrome de post-mastectomía; postoperatorio, psicogénico; en embolia pulmonar; en enfermedad renal, tal como cólico; avulsiones de raíz; hombro; muñón; talámico; en dedos de los pies y dolor de dientes.

Aparte de dolor crónico e intratable en donde inyecciones de la formulación de la presente invención para suministro prolongado de un ingrediente activo pueden ser requeridas, las presentes formulaciones de suministro prolongado pueden usarse potencialmente para ayudar en tratamiento de dolores posquirúrgicos. Con respecto a usos después de cirugía, las formulaciones se pueden usar después de cirugía abdominal, cervical, torácica o cardíaca, con lo cual varios niveles de tejido, al ser cosidos para unirlos, son tratados con el sistema. Estos tratamientos pueden ayudar a la recuperación de un paciente no sólo al evitar el uso de fármacos aditivos tales como el goteo de morfina, sino que se traducen en el alivio de dolor a inmediato y largo plazo para hacer posible una rápida rehabilitación.

Las formulaciones de la presente invención se formularon en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables por métodos convencionales reconocidos en la técnica farmacéutica.



Una cantidad efectiva pero no tóxica del sistema se emplea en tratamiento.

5 El régimen de dosis para administrar fármacos o tratar varias condiciones puede seleccionarse de acuerdo con una variedad de factores incluyendo el tipo, edad, peso, sexo y condición médica del sujeto, la ruta de administración y la formulación o combinación de ingredientes activos particular empleada. La determinación de la dosis adecuada para una situación particular está dentro de la capacidad de la técnica.

10 Generalmente, cantidades del ingrediente activo pueden variar de 0.0001% a alrededor de 50% en peso del sistema.

La formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado de la presente invención se encontró que es estable y más segura que la usada en el Gel para Heridas de Matriz Polimérica Iónica (IPM) conocido a base de varias pruebas tales

15 como la prueba de endotoxinas bacterianas (BET), pruebas de biocompatibilidad (ejemplo 1, ejemplo 2) y la prueba de carga microbiológica (ejemplo 7), y es de mejor calidad con base en una prueba química validada (ejemplos 5 y 6) y datos de estabilidad del producto a un intervalo de tiempo regular (ejemplo 4).

Se llevó a cabo una nueva BET además de los métodos de prueba

20 existentes usados con el producto Gel para Heridas de Matriz Polimérica Iónica (IPM) con el fin de asegurar que la formulación de matriz de polímero de hialuronato de sodio bio-fermentado de la presente invención cumpla los límites de la prueba BET y por consiguiente reduzca potencialmente la incidencia de pirogenicidad en los pacientes. Previamente, no habían límites de pruebas BET establecidos para el producto gel para

25 heridas de matriz de polímero iónico (IPM). Se identificaron sólo resultados de prueba de

endotoxinas bacterianas positivos o negativos. Los resultados de la prueba BET llevada a cabo con el producto de formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado y materia prima de hialuronato de sodio bio-fermentado indicaron que los productos pasan la prueba BET. Tanto el hialuronato de sodio bio-fermentado de materia prima como el producto de formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado terminado se preparan para BET con límites severos. Las pruebas BET fueron validadas.

Además, pruebas no microbiológicas para microorganismos específicos o la ausencia de microorganismos específicos se llevaron a cabo previamente en el producto o Gel para Heridas de Matriz Polimérica Iónica (IPM). Pruebas microbiológicas llevadas a cabo en cada segmento o lote del producto de formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado incluyeron todas las pruebas según con USP<61> (Recuento Microbiano Aeróbico Total (TAMC) y Recuento de Levaduras y Mohos Combinados Total (TYMC) y USP<62> (Ausencia de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* y *Salmonella*). El producto pasó estas pruebas. La estabilidad de la formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado ha sido ahora investigada y el producto ha demostrado estabilidad aceptable.

Los métodos de prueba previos usados para la determinación de hialuronato de sodio y metilparabeno en el producto Gel para Heridas de Matriz Polimérica Iónica (IMP) se encontró que no eran precisos, concisos o lineales toda vez que los métodos de prueba no fueron validados. Los métodos de prueba analíticos validados también fueron desarrollados y aplicados a la determinación de contenidos de ácido hialurónico (véase ejemplo 13 y ejemplo 5) y también para la determinación del contenido de metilparabeno (véase ejemplo 14 y ejemplo 6) en la formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado.



La aplicación de la formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado se demostró en un estudio clínico que demostraba la mejora en el cierre de líneas de incisión en pacientes con amputaciones ~~de dedos del pie~~ debido a complicaciones de diabetes (ejemplo 8).

5 En resumen, el proceso descrito permite la preparación de una concentración de matriz polimérica de hialuronato de sodio que tiene una alta concentración de hialuronato de sodio (es decir, de aproximadamente 1.5% a alrededor de 3.5% p/p. Existe una mejora significativa en la calidad y seguridad de la formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado a partir del Gel para Heridas

10 de Matriz Polimérica Iónica (IPM) debido al cambio en la fuente de hialuronato de sodio de aviaria (cresta de gallo) a una fuente bio-fermentada obtenida a partir de un proceso de fermentación bacteriana. Específicamente, la estabilidad de las composiciones de la presente invención, y las propiedades de sanación de heridas de las composiciones de la presente invención se mejoran significativa e inesperadamente, y la citotoxicidad de las

15 composiciones de la presente invención se reduce, sobre composiciones que comprenden hialuronato de sodio natural de fuentes aviarias. El uso de materia prima grado farmacopeico y/o farmacéutico también se ha encontrado inesperadamente que mejora más la estabilidad, reduce citotoxicidad y mejora las propiedades de sanación de heridas de las composiciones.

20 Las mejoras son evidentes a partir del desarrollo y aplicación de pruebas de calidad adicionales tales como BET y prueba de biocarga (USP 62) y resultados de prueba de biocompatibilidad (prueba de citotoxicidad) mejorados, el desarrollo y aplicación de métodos de prueba para hialuronato de sodio y el conservador metilparabeno.

25 La tabla 2 abajo resume el régimen de prueba de la formulación de la

presente invención en comparación con el régimen de prueba de Gel para Heridas IPM.

Tabla 2. Resumen del régimen de prueba de la ~~Formulación de la presente~~  
invención en comparación con el régimen de prueba de Gel para Heridas IPM.

5	<b>Gel para Heridas IPM</b>	Formulación bio-fermentada de hialuronato de sodio de la presente invención
10	<b>Prueba de endotoxinas bacterianas</b>	
	BET: Negativa  El método de prueba se basó en la prueba de pirogenicidad de conejo viejo	Límites de prueba BET establecidos  El método de prueba se base en prueba LAL (prueba de lisado de amebocitos de límulo) el cual se califica mejor
	-	Método BET validado
15	<b>Prueba para microorganismos especificados</b>	
20	-	Prueba para microorganismos especificados que incluyen:  <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : negativo  <i>Staphylococcus aureus</i> : negativo  <i>E. coli</i> negativo  <i>Salmonella</i> : negativo  Conducido por USP<62>/Ph.Eur.
25		



	<b>Gel para Heridas IPM</b>	Formulación bio-fermentada de hialuronato de sodio de la presente invención
	<b>Métodos de prueba validados</b>	
5	-	Método de prueba analítico validado para la determinación de contenido de hialuronato de sodio en la formulación bio-fermentada de hialuronato de sodio
10	-	Método de prueba analítico validado para la determinación de un contenido de metilparabeno en la formulación bio-fermentada de hialuronato de sodio.
	<b>Viscosidad</b>	
15	-	Viscosidad ( ) = 10,000 – 50,000 cps (registrada)
	<b>Prueba de eficacia anti-microbiana (AET)</b>	
20	-	AET: Cumple con los requisitos de la USP (prueba de estabilidad) (USP<51>)
	<b>Prueba de metilparabeno</b>	
		Prueba de metilparabeno (límite 90-110%) (prueba de estabilidad)
	<b>Prueba de biocompatibilidad</b>	



Gel para Heridas IPM	Formulación bio-fermentada de hialuronato de sodio de la presente invención
<p>5</p> <p>10</p> <p>Prueba para irritación de la piel, prueba de sensibilización por maximización en cobayo y prueba de citotoxicidad fueron llevadas a cabo.</p>	<p>Se llevaron a cabo prueba para irritación de la piel, prueba de sensibilización por maximización de cobayo y prueba de citotoxicidad.</p> <p>Sin embargo, la prueba de citotoxicidad mostró que el artículo de prueba tenía una zona de lisis más pequeña (es decir, menos citotóxico) en comparación con el gel para heridas IPM.</p>
<b>Estabilidad</b>	
<p>15</p> <p>Estabilidad a largo plazo de 1 año probada</p>	<p>Estabilidad a largo plazo de 18 meses probada.</p>

En los siguientes ejemplos, se presentan los resultados de pruebas de la formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado que comprende hialuronato de sodio (2.5% p/p), hidroxietilcelulosa (1% p/p), metilparabeno (0.2% p/p), polietilenglicol (3%, p/p) y agua purificada, USP (aproximadamente 93% p/p) hecha a partir de materia prima de grados preferidos y por procesos preferidos de la presente invención (denominado el "artículo de prueba", también conocido como "Bio Gel para Heridas IPM").



### Ejemplo 1: Prueba para la irritación de la piel

El artículo de prueba, formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado se evaluó para irritación de piel primaria de acuerdo con los lineamientos de ISO 10993-10, evaluación biológica de dispositivos médicos – parte 10.

5 Pruebas para irritación y sensibilización de la piel.

Dos porciones de 0.5 mL del artículo de prueba y artículo de control (en particular, solución salina, es decir, solución de cloruro de sodio al 0.9%) se aplicaron tópicamente a la piel de cada uno de tres conejos y se dejó en su lugar durante 24 horas. Los sitios fueron calificados para eritema y edema 1, 24, 48 y 72 horas después de la remoción de aplicación de muestra individual.

10 No hubo eritema y no se observó edema en la piel de los animales tratados con el artículo de prueba. El índice de irritación primaria para el artículo de prueba se calculó como de 0.0. La respuesta del artículo de prueba se categorizó como insignificante.

15

### Ejemplo 2: Prueba de sensibilización por maximización de cobayo

El artículo de prueba se evaluó para el potencial para causar sensibilización de contacto dérmico retrasada en una prueba de maximización de cobayo. Este estudio se llevó a cabo con base en los requisitos de ISO 10993-10, evaluación biológica de dispositivos médicos – parte 10: Pruebas para irritación y de sensibilización de la piel. La determinación de la dosis se llevó a cabo para determinar una concentración de artículo de prueba adecuado para pruebas. La solución de artículo de prueba se inyectó intradérmicamente y se parchó oclusivamente a diez cobayos. El artículo de control se inyectó similarmente y parchó de manera oclusiva los cinco conejillos de india de control.

20 Después de un periodo de recuperación, los animales de prueba y control recibieron

25



parches desafiantes de la solución de prueba y el artículo de control de artículo. los sitios fueron calificados para reacciones dérmicas a 24 y 48 horas después de la remoción del parche.

5 La solución de artículo de prueba no mostró evidencia de causar sensibilización por contacto dérmico retrasado en el cobayo. El artículo de prueba no se consideró un sensibilizador en la prueba de maximización de cobayo.

### Ejemplo 3: Prueba de citotoxicidad

10 La prueba de citotoxicidad *in vitro* mostró que el artículo de prueba y una zona más pequeña de lisis (es decir, menos citotóxica) se compara con el Gel para Heridas de Matriz Polimérica Iónica (IPM) de la técnica anterior. Los detalles de la prueba llevada a cabo se proporcionan a continuación:

15 El artículo de prueba se evaluó para determinar el potencial para citotoxicidad con base en los requisitos de ISO 10993-5. Evaluación biológica de dispositivos médicos – parte 5: pruebas para citotoxicidad *in vitro*. Pocillos por triplicado fueron dosificados en 0.1 mL del artículo de prueba puesto en un disco (disco de filtro de prueba). Los pocillos triplicados fueron dosificados con 0.1 mL de 0.9% solución de cloruro de sodio al 0.9% puesta en un disco de filtro (control de disco de filtro). Los pocillos triplicados se dosificaron con una porción de 1 cm de largo de polietileno de alta densidad como un control negativo.

20

Los pocillos triplicados fueron dosificados con una porción 1 cm x 1 cm de látex como un control positivo. Cada uno se puso en una superficie de agarosa que cubría directamente una monocapa subconfluente de células de fibroblasto de ratón L-929. Después de incubar a 37°C en presencia de 5% de CO<sub>2</sub> durante 24 horas, los cultivos fueron examinados macroscópicamente y microscópicamente para cualquier

25

morfología celular anormal y lisis celular.

La prueba de citotoxicidad *in vitro* demostró que el artículo de prueba tenía una zona de lisis más pequeña (es decir, menos citotóxica en comparación con el Gel para Heridas de Matriz Polimérica Iónica (IPM) previamente conocido, como se describe en la tabla 3 abajo.

Tabla 3

	Zona de lisis (mm)	
	Artículo de prueba	Gel para Heridas IPM
Prueba de disco 1	1	4
Prueba de disco 2	1	4
Prueba de disco 3	1	4

Ejemplo 4: Estabilidad de la formulación de matriz polimérica de hialuronato de sodio bio-fermentado

La estabilidad del artículo de prueba se estudió después de la incubación a varias temperaturas e intervalos de tiempo.

Métodos: Las concentraciones de hialuronato de sodio se midieron después de periodos de incubación de varias longitudes. Otros parámetros de prueba incluyeron prueba de apariencia, ensayo de metilparabeno, pH y viscosidad.

Resultados: Ejemplos de los resultados de prueba para Bio Gel para Heridas IPM se muestran en la tabla 4a. Todas las concentraciones de hialuronato de sodio están en % p/p.

Tabla 4a:

Temperatura	Hialuronato de sodio % (p/p)		
	Mes 0	Mes 3	Mes 6
25°C y 60% de HR	2.48	2.51	2.52
30°C y 65% de HR	2.48	No programado	2.53
30°C y 75% de HR	2.48	2.47	2.55
40°C y 75% de HR	2.48	2.52	2.46

\* Se ha observado que el factor de respuesta de la curva de calibración se incrementa durante el estudio de estabilidad. Esto se debe probablemente a la absorción de agua para el estándar. El factor de respuesta se incrementó a 104% a partir del valor de cero al valor de seis meses (103% de cero a tres meses). Los resultados son por lo tanto falsos más altos.

\*\*\* % de RSD para 2 en pesos (4 inyecciones) 4.25%.

Todos los demás parámetros de prueba están dentro de los límites de prueba de estabilidad.

Ejemplos adicionales de resultados de pruebas de estabilidad a largo plazo (18 meses) con respecto a Gel Bio para Heridas IPM se proporcionan en la tabla 1b. La concentración de hialuronato de sodio se expresa como un porcentaje de la cantidad original. Las pruebas se llevaron a cabo bajo condiciones estándar (25°C y 60% de HR).

Tabla 4b

Tiempo (meses)	0	3	6	9	12	18
Cantidad de hialuronato de sodio	96.7%	91.4%	93.1%	93.2%	93.4%	94.4%

Conclusiones: Puede concluirse de los resultados presentados arriba que el artículo de prueba es estable durante un periodo prolongado como lo sustentan los resultados de las pruebas de estabilidad acelerada a 40°C y 75% de HR, y por los resultados de las pruebas de estabilidad a largo plazo. En contraste, el producto de control que comprende hialuronato de sodio aviario (gel para heridas IPM) no pasó las pruebas de estabilidad llevadas a cabo después de 6 meses.

Ejemplo 5: Validación del método de determinación de contenido de hialuronato de sodio en el artículo de prueba

Se desarrolló un método de HPLC y se validó para la determinación de hialuronato de sodio en el artículo de prueba. Se usó un sistema de HPLC con un detector UV.

Resultados y discusión: El ensayo promedio obtenido para hialuronato de sodio en el artículo de prueba fue 2.545% p/p y el % de desviación estándar relativa fue de 0.32. Durante un intervalo de 1.14% (o 114 µg/mL) a 3.99% (o 399 µg/mL) el ensayo mostró buena linealidad con un coeficiente de correlación mayor que 0.999. Un estudio de precisión demostró que el % de desviación estándar relativa fue de aproximadamente



0.481 para el reclamo de etiqueta porcentual de hialuronato de sodio. En consecuencia, el método de HPLC usado para la determinación del contenido de hialuronato de sodio (o ensayo) ha sido validado y verificado.

5                    Ejemplo 6: Validación del método para la determinación del contenido de metilparabeno en el artículo de prueba.

Un método de HPLC fue validado para la determinación del contenido de metilparabeno en el artículo de prueba fue desarrollado. Se usó un sistema de HPLC con un detector de UV.

10                    Resultados y discusión: El ensayo promedio obtenido para metilparabeno fue 103.3% y la desviación estándar relativa % fue de 0.56. A lo largo de un intervalo de 0.06% a 0.18% el ensayo de metilparabeno mostró buena linealidad con un coeficiente de correlación mayor que 0.999. Un estudio de precisión demostró que la desviación estándar relativa % fue de aproximadamente 0.096 para el reclamo de etiqueta de metilparabeno. En consecuencia, el método de HPLC usado para la determinación del contenido de metilparabeno (o ensayo) ha sido validado y verificado.

Ejemplo 7: Prueba de eficacia antimicrobiana (AET)

20                    La prueba de eficacia antimicrobiana (AET) mide la eficacia de conservadores antimicrobianos que se añaden para inhibir el crecimiento de microorganismos que pueden introducirse accidentalmente durante el proceso de fabricación o durante el uso del producto. La prueba de eficacia antimicrobiana debe llevarse a cabo en todos los productos de base acuosa que sean inyectables, oftálmicos, ópticos, nasales, orales y tópicos.

25                    El conservador antimicrobiano en el artículo de prueba es metilparabeno a





una concentración objetivo de 0.2% p/p.

Métodos: La AET se llevó a cabo en el artículo de prueba según el estándar farmacopeico USP<51> usando los cinco microorganismos – *Escherichia coli* (bacteria gram negativa fermentativa), *Pseudomonas aeruginosa* (bacteria gram negativa no fermentativa), *Staphylococcus aureus* (bacteria gram positiva), *Aspergillus niger* (moho u hongo) y *Candida albicans* (levadura). La prueba de eficacia antimicrobiana se llevó a cabo en tres lotes en un estudio de estabilidad a largo plazo por puntos de tiempo de 18 meses.

Resultados: Los resultados de prueba indican que el sistema conservador y concentración propuestos cumplen los requisitos de la prueba de eficacia de conservadores para productos categoría 2 (según USP, productos usados tópicamente elaborados con bases acuosas o vehículos, productos nasales no estériles y emulsiones, incluyendo aquellas aplicadas a membranas mucosas). Específicamente, incluso a 18 meses, el artículo de prueba fue negativo para *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* y *Candida albicans*. Más aún, incluso a 18 meses, el TYMC y TAMC se encontraron inferiores a 10 ufc/g. En contraste, el producto de control que comprende hialuronato de sodio aviario (Gel para Heridas IPM) no pasó las pruebas microbianas después de 6 meses.

Conclusión: El sistema conservador ha demostrado ser adecuado y efectivo para proteger al artículo de prueba contra el crecimiento microbiano o contra microorganismos introducidos accidentalmente.

Ejemplo 8: Cierre de líneas de incisión en pacientes con amputaciones de dedos

Diseño del estudio: Gel Bio para Heridas IPM se usó en la sanación de



líneas de incisión después de amputaciones de dedo. Durante un periodo de meses, se llevaron a cabo 116 amputaciones en pacientes diabéticos con ulceración diabética de dedo sin sanación. El flujo sanguíneo nunca fue perfecto en esos pacientes, sin embargo, tampoco está profundamente deteriorado. El protocolo de tratamiento fue aplicar una película delgada de Gel Bio para Heridas IPM a lo largo de la línea de incisión, sobre una base diaria, con el sitio de herida cubierto con vendaje de espuma. Los pacientes fueron observados una semana post-operatoriamente y de nuevo dos semanas más tarde.

Resultados: Los resultados indican que 94 (81%) de los pacientes sanaron, con epitelialización completa de la línea de incisión a las 1-2 semanas. Esto contrasta con un tiempo de sanación de 4 semanas típico que se observó antes del uso de Gel Bio para Heridas IPM. Además, la tasa de complicación fue correspondientemente baja toda vez que no hubo dehiscencia o infección de línea de incisión.

Conclusiones: La experiencia total con Gel Bio para Heridas IPM ha sido extremadamente positiva. Particularmente sorprendente fue la consistencia en los tiempos de sanación de las líneas de incisión, dado que los pacientes eran pacientes muy enfermos con daño a órganos final subyacente profundo. El mecanismo de sanación en estos individuos es ampliamente deteriorado y la amputación con cierre primario frecuentemente está plagada de complicaciones postoperatorias. La tasa de estas complicaciones se redujo con la introducción de Bio Gel para Heridas IPM como un protocolo de tratamiento postoperatorio y de esta manera la necesidad de cuidado casero continuo se redujo también, así como el retorno del paciente al trabajo o actividades normales de la vida diaria fue acelerado. Las propiedades de sanación de heridas mejoradas de Gel Bio para Heridas IPM pueden ser atribuibles a la estabilidad incrementada y citotoxicidad reducida de Bio Gel para Heridas IPM.

Ejemplo 9: Una formulación que contiene hialuronato de sodio para aplicación a heridas

Tabla 5. Una formulación de hialuronato de sodio bio-fermentado preferida que contiene una alta concentración de hialuronato de sodio

Ingrediente	Cantidades (% p/p)
Hialuronato de sodio	2.5
hidroxietilcelulosa	1.0
Polietilenglicol	3.0
Metilparabeno	0.2
Agua	q.s.*
Total	100

- Cantidad suficiente

El lote anterior contenía un hialuronato de sodio como un humectante y agente formador de matriz, hidroxietilcelulosa como un agente espesante y ayuda a formar matriz polimérica, polietilenglicol como un solvente, metilparabeno como conservador y agua como un solvente. Se hicieron varios experimentos y el intervalo de pH óptimo se estableció como 5.0 a 7.0. El intervalo de viscosidad óptima de la solución se estableció para estar en el intervalo de 10,000-50,000 cps a temperatura ambiente (23°C). Se encuentra que el producto es estable.

La formulación de la tabla 5 se preparó al añadir metilparabeno a agua en un recipiente adecuado y mezclando a una velocidad de aproximadamente 400 rpm a



menos de aproximadamente 2,000 rpm ("velocidad media") por pocas horas (aproximadamente 2 horas). Se aseguran que metilparabeno se disuelva completamente.

Luego se añade lentamente hialuronato de sodio (que tiene un peso molecular de 600,000-800,000 Daltons) en un flujo uniforme a la mezcla gradualmente incrementando la velocidad de agitación de velocidad media como la definida arriba a una velocidad de aproximadamente 2,000 rpm a alrededor de 3,000 rpm ("alta velocidad") al espesarse la mezcla y se continúa centrifugando mientras se agrega hialuronato de sodio en un recipiente adecuado (durante aproximadamente 1 hora). Se mezcla durante pocas horas (aproximadamente 2 horas) a velocidad media. Se continúa mezclando a una velocidad de alrededor de 25 rpm a menos de 400 rpm ("velocidad baja") por larga duración (aproximadamente 8 horas) hasta que todo el polímero de hialuronato de sodio se haya disuelto en la mezcla y se haya formado una solución viscosa cristalina-transparente.

En un recipiente separado se disuelve 1% de hidroxietilcelulosa en agua purificada mientras se agita a velocidad media y se mezcla bien. Se continúa agitando durante pocas horas (alrededor de 1 a aproximadamente 2 horas).

La solución de hidroxietilcelulosa resultante se añade a la solución de hialuronato de sodio y se mezcla a velocidad media seguida por baja velocidad por un periodo largo (aproximadamente 4 horas) hasta que se produzca una solución homogénea.

Se agrega polietilenglicol a la mezcla mientras se mezcla a una velocidad media. Se continúa mezclando a velocidad media durante aproximadamente 1 hora. Se reduce la velocidad y se continúa mezclando a baja velocidad durante pocas horas (mínimo de aproximadamente 3 horas). El gel global se llena después en tubos o botellas y se tapa.

Ejemplo 10: Una formulación que contiene hialuronato de sodio y ácido

pantoténico para uso tópico

Una formulación que contiene hialuronato de sodio y ácido pantoténico puede usarse en el tratamiento de piel dañada y se puede usar en el tratamiento de dermatitis atópica.

Tabla 6. Una formulación de hialuronato de sodio bio-fermentado que contiene una alta concentración de hialuronato de sodio y ácido pantoténico

	<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidades (% p/p)</b>
10	Hialuronato de sodio	1.5
	hidroxietilcelulosa	1.0
	Polietilenglicol	3.0
	Acido pantoténico (vitamina B5)	1.5
15	Metilparabeno	0.2
	Agua	q.s.*
	Total	100

- Cantidad suficiente

20 La formulación en la tabla 6 se preparó como se detalla a continuación:

Primero, se añadió metilparabeno a agua en un recipiente adecuado y se mezcló a velocidad media durante pocas horas (aproximadamente 2 horas). Se toman providencias de que el metilparabeno se disuelva completamente. Luego se añade hialuronato de sodio lentamente en un flujo uniforme en agua mientras se incrementa gradualmente la velocidad de agitación de velocidad media a alta una vez que el solvente

25

se espesa y se continúa centrifugando mientras se agrega hialuronato de sodio en un recipiente adecuado. Se mezcla durante pocas horas (aproximadamente 2 horas) a velocidad media. Se continúa la mezcla a baja velocidad durante una larga duración (nocturno, o aproximadamente 8 horas a alrededor de 15 horas) hasta que todo el polímero de hialuronato de sodio se haya disuelto en la mezcla y se haya formado una solución viscosa cristalina-transparente.

En un recipiente separado se disuelve 1.0% de hidroxietilcelulosa en agua purificada mientras se agita a velocidad media y se mezcla bien. Se continúa agitando durante pocas horas (de aproximadamente 1 a alrededor de 2 horas).

Luego se añade la solución de hidroxietilcelulosa a la solución de hialuronato de sodio y se mezcla a velocidad media hasta que se produzca una solución homogénea. La solución resultante se mezcla a velocidad media durante un largo periodo (durante la noche, o aproximadamente 8 horas a alrededor de 15 horas) hasta que se produzca una solución homogénea. Se añade polietilenglicol a la mezcla mientras se mezcla a una velocidad media durante aproximadamente 1 hora. Esto es seguido por la adición de ácido pantoténico y se mezcla bien a velocidad media durante pocas horas (aproximadamente 2 horas) hasta que se haya disuelto y el gel sea homogéneo. El gel global es luego llenado en tubos o botellas y tapado.

#### Ejemplo 11: Una formulación que contiene hialuronato de sodio y diclofenaco de sodio para uso tópico

Una formulación que contiene hialuronato de sodio y diclofenaco de sodio puede usarse para tratar queratosis actínica y en el alivio de dolor musculoesquelético en áreas afectadas por el dolor. Estas áreas incluyen, pero no están limitadas a, rodillos, tobillos, pies, espalda, cuello, codos y caderas.

Tabla 7: Una formulación de hialuronato de sodio bio-fermentado que contiene una alta concentración de hialuronato de sodio y diclofenaco de sodio. Se encontró que la formulación era estable

Ingrediente	Cantidades (% p/p)
Diclofenaco de sodio	3
Hialuronato de sodio	2.3
Hidroxietilcelulosa	0.7
Metoxipolietilenglicol	10
Metilparabeno	0.3
Agua	q.s.
Total	100

- Cantidad suficiente

La formulación de la tabla 7 se preparó como sigue:

Primero se añadió metilparabeno a agua en un recipiente adecuado y se mezcló a velocidad media durante pocas horas (aproximadamente 2 horas). Se aseguró que metilparabeno se disolviera completamente. Luego se añadió lentamente hialuronato de sodio a ésta mientras se incrementaba gradualmente la velocidad de agitación de media a alta al espesarse la mezcla y se continúa centrifugando mientras se agrega hialuronato de sodio en un recipiente adecuado durante aproximadamente 1 hora. Se mezcla durante pocas horas (aproximadamente 2 horas) a velocidad media. Se continúa la mezcla a baja velocidad durante larga duración (aproximadamente 8 horas) hasta que todo el polímero de hialuronato de sodio se haya disuelto en agua y se haya formado una solución viscosa cristalina-transparente. El gel debe ser homogéneo.

En un recipiente separado se disuelve 0.7% de hidroxietilcelulosa en agua purificada mientras se agita a velocidad baja a media y se mezcla bien. Se continúa agitando durante pocas horas (alrededor de 1 a aproximadamente 2 horas).

5 La solución de hidroxietilcelulosa resultante se añade a la solución de hialuronato de sodio y se mezcla a velocidad media durante un largo periodo (de aproximadamente 10 a alrededor de 15 horas) hasta que se produzca una solución homogénea.

10 Se añade metoxipolietilenglicol (MPEG) al 10% a la mezcla. La velocidad de mezcla debe incrementarse para la mezcla mientras esta etapa se está llevando a cabo hasta una alta velocidad. La mezcla resultante así formada debe dejarse mezclar a velocidad media durante pocas horas (alrededor de 3 a aproximadamente 4 horas).

15 Usando técnicas seguras, 3% de diclofenaco de sodio debe añadirse lentamente a la mezcla. Nuevamente la velocidad de mezcla para efectos de adición de diclofenaco debe ser incrementada a alta velocidad, y la adición de una cantidad completa de diclofenaco debe completarse dentro de una duración corta (aproximadamente 15 minutos).

20 La mezcla final es clara con un ligero tinte verde después de una mezcla adicional de larga duración (aproximadamente 15 a alrededor de 20 horas) a velocidad media. El producto final debe ser transferido, usando una técnica aséptica, a un recipiente de almacenamiento a granel y luego el gel a granel se llena en tubos o botellas y se tapa.





Ejemplo 12: Una formulación que contiene hialuronato de sodio para tratar

sequedad vaginal que contiene el uso de niacina y glicerina

Tabla 8. Una formulación de hialuronato de sodio bio-fermentado que

contiene una alta concentración de hialuronato de sodio y niacina y glicerina

Ingrediente	Cantidades (% p/p)
Niacina	0.85
Glicerina	3
Hialuronato de sodio	1.5
Hidroxietilcelulosa	0.7
Polietilenglicol	3
Metilparabeno	0.2
Agua	q.s.
Total	100

- Cantidad suficiente

\*\* Glicerina USP debe usarse [no más de 0.10% cada una para dietilenglicol y etilenglicol se encuentra en glicerina según USP]

Una preparación transdérmica de niacina (0.85%) y glicerina (3%) fórmula para la tabla 8 se prepara de la siguiente manera. Primero, se añade metilparabeno a agua en un recipiente adecuado y se mezcla a velocidad media durante pocas horas (aproximadamente 2 horas). Se asegura que metilparabeno se disuelva completamente. Luego se añade hialuronato de sodio lentamente en un flujo uniforme en agua mientras se incrementa gradualmente la velocidad de agitación de velocidad media a alta al espesarse la mezcla y se continúa centrifugando mientras se agrega hialuronato de sodio en un

recipiente adecuado durante aproximadamente 1 hora. Se mezcla durante pocas horas (aproximadamente 2 horas) a velocidad media. Se continúa la mezcla a ~~baja velocidad~~ durante una larga duración (durante la noche, o aproximadamente 8 horas a alrededor de 15 horas) hasta que todo el polímero de hialuronato de sodio se haya disuelto en agua y se haya formado una solución viscosa cristalina-clara. El gel debe ser homogéneo.

Después se prepara una solución al añadir 0.7% de HEC a agua purificada mientras se agita a velocidad baja a media y se mezcla bien. Se continúa agitando durante pocas horas (alrededor de 1 a aproximadamente 2 horas). La solución resultante se añade después a la mezcla formada arriba de hialuronato de sodio y se mezcla a velocidad media durante un largo periodo (durante la noche, o aproximadamente 8 horas a alrededor de 15 horas) para formar una matriz de polímero HEC/hialuronato de sodio.

A la mezcla resultante se le añade PEG y se agita a velocidad media durante pocas horas (aproximadamente 2.5 horas).

Luego, se añaden niacina y glicerina a la matriz de HA/polímero HEC. La mezcla se agita a baja velocidad durante pocas horas (aproximadamente 2 horas). El gel a granel es ya sea almacenado para llenar o 0.5 a 0.75 ml del gel resultante se carga en jeringas y se almacena en un refrigerador.

### Ejemplo 13: Método de prueba para la determinación de hialuronato de sodio

Se desarrolló un método de prueba por HPLC para la determinación de hialuronato de sodio en el artículo de prueba (formulación en gel para heridas bio-fermentada de hialuronato de sodio). Las condiciones del método de prueba se resumen en la tabla 9.

Tabla 9

	Columna	bioSep SEC-s2000, 300 mm x 7.8 mm, 5 $\mu$
	Detección	UV @ 205 nm
5	Temperatura de columna	40°C
	Volumen de inyección	10 $\mu$ L
	Velocidad de flujo:	1.3 mL/min
	Tiempo de corrida	20 min
10	Fase móvil:	50 mM de KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , pH ajustado a 7.0

El ensayo se basa en el análisis de HPLC con una columna analítica de exclusión de tamaño y detección UV a 205 nm.

#### 15 Ejemplo 14: Método de prueba para la determinación de metilparabeno

Se desarrolló un método de prueba por HPLC para la determinación de metilparabeno en el artículo de prueba (formulación en gel para heridas bio-fermentada de hialuronato de sodio).

Las condiciones del método de prueba se resumen en la tabla 10.

20

25

Tabla 10:

	Columna	Kinetex, C8, 100 mm x 4.6 mm, 2.6 $\mu$ , 100 A
	Detección	UV @ 254 nm
5	Temperatura de columna	35°C
	Volumen de inyección	20 $\mu$ L
	Velocidad de flujo:	1.4 mL por minuto
	Tiempo de corrida	2 min
10	Fase móvil:	60:40 (v/v) 0.1% de TFA en Milli-Q agua; 0.1% de TFA en acetonitrilo

El ensayo se basa en un análisis de HPLC con columna analítica C8 de fase inversa y detección UV a 254 nm.

15

Ejemplo 15: Farmacocinética y biodisponibilidad de 3% de diclofenaco, matriz de IPM 2.3% en Gel de Hialuronato de Sodio

20

Se llevó a cabo un estudio de farmacocinética y biodisponibilidad de etiqueta abierta, unicéntrico, de dosis única, de un tratamiento y un periodo. Seis hombres no fumadores sanos y normales entre las edades de 18-45 se les administró 3% de una matriz IPM de diclofenaco al 3% hecha con 2.3% de hialuronato de sodio aviaro, que se aplicó una vez durante un periodo de 24 horas. Un total de 4 cc fue la cantidad aplicada a la rodilla derecha anterior de cada sujeto. Se evaluaron la farmacocinética y biodisponibilidad de la aplicación de una sola dosis. Un total de 18 muestras de sangre y 8 muestras de orina fueron recolectadas para cada sujeto durante el periodo de 24 horas

25

después de la administración. La concentración de diclofenaco se evaluó para cada muestra. Las concentraciones de diclofenaco en plasma y orina se presentan en la tabla 11 y 12. Se encontró diclofenaco en muestras de todos los sujetos. Las concentraciones variaron de sujeto en sujeto, pero esto fue normal para diclofenaco.

5

Tabla 11. Concentración en plasma de diclofenaco (ng/mL) medida en muestras de sujetos usando 3% de gel de diclofenaco

Sujeto	Hora	Min	Concentración de diclofenaco encontrada [ng/ml]
1	0	0	BLQ
1	0	25	BLQ
1	0	5	BLQ
1	0	75	BLQ
1	1	0	0.074
1	1	5	0.228
1	2	0	0.385
1	2	5	0.487
1	3	0	0.655
1	3	5	0.859
1	4	0	0.807
1	5	0	0.944
1	6	0	1.40
1	7	0	1.53
1	8	0	1.75



5

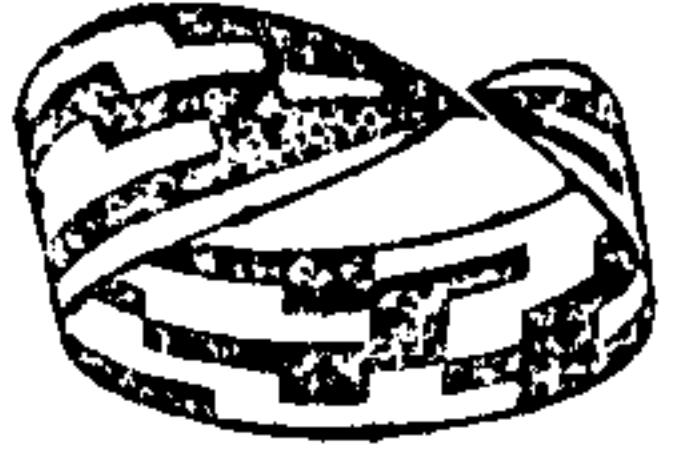
10

15

20

25

Sujeto	Hoja	Min	Concentración de diclofenaco encontrada [ng/ml]
1	12	0	1.57
1	16	0	1.93
1	24	0	2.33
2	0	0	BLQ
2	0	25	BLQ
2	0	5	BLQ
2	0	75	BLQ
2	1	0	0.042
2	1	5	0.191
2	2	0	0.369
2	2	5	0.403
2	3	0	0.471
2	3	5	0.410
2	4	0	0.496
2	5	0	0.814
2	6	0	1.03
2	7	0	1.01
2	8	0	1.33
2	12	0	1.25
2	16	0	1.98
2	24	0	2.44
3	0	0	BLQ
3	0	25	BLQ
3	0	5	BLQ



5

10

15

20

25

Sujeto	Hora	Min	Concentración de diclofenaco encontrada [ng/ml]
3	0	75	BLQ
3	1	0	BLQ
3	1	5	BLQ
3	2	0	0.049
3	2	5	0.184
3	3	0	0.118
3	3	5	0.184
3	4	0	0.232
3	5	0	0.244
3	6	0	0.377
3	7	0	0.489
3	8	0	0.532
3	12	0	0.944
3	16	0	1.64
3	24	0	2.92
4	0	0	BLQ
4	0	25	BLQ
4	0	5	BLQ
4	0	75	BLQ
4	1	0	BLQ
4	1	5	BLQ
4	2	0	BLQ

IMPPI



Sujeto	Hora	Mi	Concentración de diclofenaco en suero [ng/ml]
4	2	5	0.090
4	3	0	BLQ
4	3	5	0.053
4	4	0	0.045
4	5	0	0.084
4	6	0	0.107
4	7	0	0.312
4	8	0	0.383
4	12	0	0.563
4	16	0	0.940
4	24	0	0.429
5	0	0	BLQ
5	0	25	BLQ
5	0	5	BLQ
5	0	75	BLQ
5	1	0	BLQ
5	1	5	BLQ
5	2	0	BLQ
5	2	5	0.046
5	3	0	0.066
5	3	5	0.081
5	4	0	0.150

5

10

15

20

25





5

10

15

20

25

Sujeto	Hora	Min	Concentración de diclofenaco encontrada [ng/ml]
5	5	0	0.367
5	6	0	0.448
5	7	0	0.742
5	8	0	1.07
5	12	0	3.04
5	16	0	3.65
5	24	0	2.17
6	0	0	BLQ
6	0	25	BLQ
6	0	5	BLQ
6	0	75	BLQ
6	1	0	BLQ
6	1	5	0.023
6	2	0	0.072
6	2	5	0.109
6	3	0	0.215
6	3	5	0.287
6	4	0	0.385
6	5	0	0.772
6	6	0	1.23
6	7	0	1.60
6	8	0	1.98

5

Sujeto	Hora	Min	Concentración de diclofenaco encontrada [ng/ml]
6	12	0	1.34
6	16	0	1.63
6	24	0	1.31

\* BLQ = Debajo del límite inferior de cuantificación (0.02 ng/ml)

10

Tabla 12. Concentración de diclofenaco en orina (ng/mL) medida en muestras de sujetos usando 3% de gel de diclofenaco

15

20

25

Sujeto	Hora	Concentración de diclofenaco encontrada [ng/ml]
1	pre 0.0 hr	BLQ
1	0.0 – 2.0 hr	0.012
1	2.0 – 4.0 hr	0.117
1	4.0 – 6.0 hr	0.704
1	6.0 – 8.0 hr	3.58
1	8.0 – 10.0 hr	3.98
1	10.0 – 12.0 hr	3.83
1	12.0 – 24.0 hr	2.81
2	pre 0.0 hr	BLQ
2	0.0 – 2.0 hr	0.042
2	2.0 – 4.0 hr	0.434



5

10

15

20

25

Sujeto	Hora	Concentración de diclofenaco encontrada (ng/ml)
2	4.0 – 6.0 hr	0.428
2	6.0 – 8.0 hr	0.724
2	8.0 – 10.0 hr	2.59
2	10.0 – 12.0 hr	0.785
2	12.0 – 24.0 hr	2.67
3	pre 0.0 hr	BLQ
3	0.0 – 2.0 hr	BLQ
3	2.0 – 4.0 hr	BLQ
3	4.0 – 6.0 hr	0.144
3	6.0 – 8.0 hr	0.315
3	8.0 – 10.0 hr	0.748
3	10.0 – 12.0 hr	0.427
3	12.0 – 24.0 hr	6.04
4	pre 0.0 hr	BLQ
4	0.0 – 2.0 hr	BLQ
4	2.0 – 4.0 hr	0.051
4	4.0 – 6.0 hr	0.120
4	6.0 – 8.0 hr	0.356
4	8.0 – 10.0 hr	0.654
4	10.0 – 12.0 hr	4.95
4	12.0 – 24.0 hr	2.24



Sujeto	Hora	Concentración de diclofenaco encontrada [ng/ml]
5	pre 0.0 hr	BLQ
5	0.0 – 2.0 hr	0.595
5	2.0 – 4.0 hr	0.097
5	4.0 – 6.0 hr	0.804
5	6.0 – 8.0 hr	2.29
5	8.0 – 10.0 hr	0.763
5	10.0 – 12.0 hr	3.28
5	12.0 – 24.0 hr	7.76
6	pre 0.0 hr	BLQ
6	0.0 – 2.0 hr	BLQ
6	2.0 – 4.0 hr	0.384
6	4.0 – 6.0 hr	3.52
6	6.0 – 8.0 hr	13.9
6	8.0 – 10.0 hr	11.0
6	10.0 – 12.0 hr	2.71
6	12.0 – 24.0 hr	2.27

\* BLQ = Debajo del límite inferior de cuantificación (0.01 ng/ml).

Ejemplo 16: Eficacia de un gel de matriz de hialuronato de sodio al 2.3%

IPM y diclofenaco al 3% por aplicación tópica en el tratamiento de condiciones musculoesqueléticas dolorosas, incluyendo principalmente el alivio de dolor y espasmo muscular

5                    Se pidió a 23 pacientes con dolos musculoesquelético, en una clínica del dolor, que se hicieran voluntarios para probar un gel de matriz de hialuronato de sodio al 2.3% IPM y diclofenaco al 3% hecho con hialuronato de sodio aviario. El gel se aplicó en forma libre a la piel cuatro veces al día sobre el área con el problema musculoesquelético que causaba el dolor. Se pidió a los pacientes evaluar 34 criterios para estimar su dolor

10 musculoesquelético o rigidez en una escala análoga visual, gradada 0-10 en la primera visita. Se evaluaron 17 pacientes bajo sólo un criterio pero cinco pacientes fueron evaluados en dos criterios como sigue: tobillo derecho e izquierdo, dolor y rigidez de cuello, dolor de cabeza y dolor de cuello y hombro y dolor de cuello para hacer un total de 34 criterios. Luego se les dio un suministro de gel de diclofenaco para aplicarlo a un área

15 dolorosa y se les pidió graduar el cambio en el dolor en una escala de 9 puntos de mucho muy peor a través de ningún cambio hasta mucho muy mejor. Luego se les dio a los pacientes un suministro adicional de una semana de gel e hicieron una segunda auto-evaluación al final del tratamiento de la segunda semana.

20                    Después del tratamiento de una semana, de 23 pacientes, 27 criterios, ocho criterios no reportaron cambios, 19 reportaron una mejoría que variaba entre un poco mejor a ningún dolor y nadie tubo peor dolor. El grupo que mejoró consistía en diez, uno, seis y dos pacientes que respectivamente estaban un poco mejor, mejor, mucho mejor y que no tenían dolor. Ningún paciente tuvo dolor peor.

25                    Después de dos semanas de tratamiento, que esencialmente es similar a los resultados después de una semana, sólo el criterio de un paciente se reportó como un

poco peor, seis no mostraron cambios y los criterios de veinte pacientes reportaron  
mejoría con una mejor sensación.

5 Combinando los resultados después de una y dos semanas se produjo un  
resultado similar al de cada uno de ellos por separado. Usando una escala análoga visual  
con sólo un criterio para cada paciente, la cifra promedio cae después de diclofenaco y se  
eleva cuando es discontinuado.

10 En conclusión, el gel de diclofenaco es una preparación efectiva para el  
alivio transcutáneo de artritis y dolor musculoesquelético. Tiene buena aceptación por los  
pacientes, es fácilmente administrado, no causa efectos secundarios serios y evita la  
incomodidad gastrointestinal que comúnmente acompaña el uso oral de AINES.

15 Había una mejora esperada en el comportamiento clínico mencionado  
arriba de gel de matriz polimérica iónica fabricado con hialuronato de sodio a partir de una  
fuente bacteriana de acuerdo con la presente invención, en comparación con aquella  
fabricada con hialuronato de una fuente aviaría usando en el ejemplo 15 y 16 toda vez  
que las formulaciones de la presente invención tienen efectos de citotoxicidad reducida y  
estabilidad mejorada.

Aunque se han descrito modalidades específicas de la invención, será  
aparente para un experto en la técnica que variaciones y modificaciones a las  
modalidades pueden hacerse dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición tópica de gel de matriz polimérica estable, que comprende:

5 1.5% p/p a 3.5% p/p de hialuronato de sodio biofermentado;

0.1% p/p a 2.0% p/p de hidroxietilcelulosa;

2% p/p a 4% p/p de polietilenglicol;

0.1% p/p a 0.3% p/p de metilparabeno; y

agua;

10 caracterizada porque el hialuronato de sodio biofermentado es de calidad farmacéutica de acuerdo con la Farmacopea Europea, tiene un peso molecular promedio entre 600.00 daltons a 800,000 daltons, tiene un contenido de ácido nucleico de menos de o igual a 0.5 %, tiene un contenido de proteína de menos de o igual a 0.3 %, conteo total combinado de levaduras y mohos (TYMC) de menos de o igual a 10 ufc/g, puntuación de  
15 la prueba de endotoxinas bacterianas (BET) de menos de o igual a 0.5 IU/mg, y pruebas ausentes para *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, y *Salmonella sp.*;

en donde la hidroxietilcelulosa es de calidad farmacéutica y tiene un conteo microbiano aeróbico total (TAMC) de menos de 100 ufc/g;

20 en donde el polietilenglicol (PEG) es de calidad farmacéutica, en donde el peso molecular promedio del PEG es de 200 y en donde el PEG tiene un contenido combinado de etilenglicol y dietilenglicol de menos de o igual a 0.25 %, TAMC de menos de 100 ufc/mL y TYMC de menos de o igual a 10 ufc/mL;

25 en donde el metilparabeno es de calidad farmacéutica y tiene un TAMC de menos de 100 ufc/mL y TYMC de menos de o igual a 10 ufc/mL; y

en donde el agua es purificada con un TAMC de menos de 100 unidades y una puntuación BET de menos de 0.25 EU/mL.

2. La composición de matriz polimérica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada además porque 0.1 mL de la composición de matriz de polímero colocado sobre un disco de filtro colocado sobre una superficie de agarosa que cubre una monocapa subconfluyente de fibroblastos de ratón L-929, da una zona de lisis de 1 mm después de la incubación a 37°C en presencia de 5% de CO<sub>2</sub> durante 24 horas.

3. La composición de matriz polimérica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada además porque el hialuronato de sodio biofermentado está presente en una cantidad de 2.3 a 2.7% p/p, la hidroxietilcelulosa está presente en una cantidad de 0.5 a 1.5% p/p.

4. La composición de matriz polimérica de conformidad con la reivindicación 3, caracterizada además porque el hialuronato de sodio biofermentado está presente en una cantidad de 2.5% p/p, la hidroxietilcelulosa está presente en una cantidad de 1% p/p, el polietilenglicol está presente en una cantidad de 3.0% p/p, y el metilparabeno está presente en una cantidad de 0.2% p/p.

5. La composición de matriz polimérica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada además porque es para su uso en uno o más de: una aplicación tópica, tratamiento y/o curación de heridas en donde el uso comprende aplicar la composición tópicamente, tratar y/o promover la curación de incisiones postoperatorias, tratar y/o curar afecciones dermatológicas, tratar y/o curar quemaduras, tratar la piel dañada, tratar dermatitis atópica, tratar sequedad vaginal, tratar queratosis actínica y/o tratar dolor musculoesquelético.



**RESUMEN**

La presente invención se refiere a composiciones de matriz polimérica estables que comprenden concentraciones elevadas (de aproximadamente 1.5% p/p a aproximadamente 3.5% p/p) de hialuronato de sodio obtenido de una fuente de *Streptococcus zooepidemicus* y un polímero no iónico. La composición de matriz polimérica comprende además polietilenglicol y metilparabeno, y utiliza ingredientes que son de grado farmacéutico o farmacopeico. Las composiciones de matriz polimérica pueden comprender opcionalmente un ingrediente activo. Las presentes composiciones de matriz polimérica se pueden usar en el tratamiento de heridas, quemaduras, ciertas condiciones dermatológicas, sequedad vaginal, y en la administración tópica y transdérmica y la liberación sostenida de ingredientes activos.