

DESCRIPCIÓN

TÍTULO DE LA INVENCION: MÉTODO PARA LA PREPARACIÓN DE RELLENO QUE CONTIENE FRACCIÓN DE ADN Y RELLENO PREPARADO POR MEDIO DE ESTE

CAMPO TÉCNICO

La presente descripción se relaciona con un método para preparar un relleno que contiene una fracción de ADN y con un relleno preparado por medio de este.

ANTECEDENTES DE LA TÉCNICA

La estructura de los tejidos blandos del cuerpo humano se mantiene mediante proteínas, como colágeno, elastina, etc., y una matriz extracelular que contiene glucosaminoglicanos. Varios factores causan defectos en los tejidos blandos. En este caso, la forma original del tejido blando defectuoso se restaura o corrige mediante la inyección quirúrgica o no quirúrgica de tejido biológico o compuestos químicos sintéticos.

Un relleno inyectado para la restauración o corrección es un dispositivo médico que usa el principio de

mantener autónomamente el volumen de este mediante reparación física al inyectarse por vía subcutánea para una mejora temporal, recuperación de volumen y lo similar alrededor de las arrugas faciales de los adultos. Típicamente, un relleno se compone de una jeringa llena con una solución inyectable y combinada con una aguja de inyección usadas juntas.

Los productos de relleno disponibles actualmente se basan principalmente en ácido hialurónico. Para aumentar la estabilidad química y estructural del ácido hialurónico y mantener sus propiedades fisicoquímicas in vivo a largo plazo, se ha usado un método de estabilización del ácido hialurónico con la adición de un agente reticulante (publicación internacional de patente núm. WO/2019/130360). Sin embargo, los componentes del agente reticulante descompuestos in vivo pueden reconocerse como sustancias extrañas y, por tanto, pueden ocurrir respuestas inflamatorias. Como resultado, es necesaria una etapa de eliminación del agente reticulante mediante lavado durante el proceso, y es inevitable el examen de la cantidad residual del agente reticulante, lo cual es problemático para la eficacia del proceso de preparación.

Además, en el caso de rellenos a base de ácido hialurónico, las jeringas llenas de gel se esterilizan principalmente mediante un método realizado en condiciones de

alta temperatura usando un autoclave y lo similar. Sin embargo, puede haber un problema porque la viscoelasticidad se reduce durante el proceso de esterilización. En el caso de contener ácido hialurónico en altas concentraciones o usar ácido hialurónico reticulado para compensar el problema, puede haber un problema porque los pacientes tienen dolor intenso durante el tratamiento, lo que hace que la satisfacción del paciente sea baja y también hace que el tratamiento sea inconveniente para los profesionales.

Por otra parte, para compensar los aspectos funcionales de los rellenos a base de ácido hialurónico, se están realizando investigaciones sobre rellenos compuestos de polinucleótidos y lo similar. Sin embargo, durante el proceso de esterilización que se requiere durante el proceso de preparación, existe el problema de que la funcionalidad de los polinucleótidos mezclados en el proceso de preparación real es pobre en comparación con la cantidad de estos debido a la desnaturalización de los polinucleótidos. Alternativamente, es problemático que la cantidad de polinucleótido provoque dolor durante el tratamiento, haciendo que la satisfacción del paciente sea baja.

DESCRIPCIÓN

Problema técnico

Los inventores de la presente descripción se han esforzado por resolver problemas en la técnica relacionada. Como resultado, cuando se usa un método de preparación específico en la preparación de rellenos, las ventajas del proceso permiten aumentar la eficiencia de la preparación y preparar un relleno para obtener viscoelasticidad a pesar de las bajas cantidades de componentes constituyentes. Además, los inventores han demostrado que el relleno preparado mediante el método de preparación de relleno tiene excelentes efectos de mejorar el espesor de la piel y reducir las arrugas de la piel, la capacidad de formación de colágeno y lo similar, en comparación con los productos disponibles convencionalmente, al mismo tiempo que causan poco dolor durante la inyección, proporcionando alta satisfacción a pacientes y profesionales. Como resultado, los inventores han completado la presente descripción.

La presente descripción proporciona un método para preparar un relleno, que incluye: a) mezclar una fracción de ADN con un disolvente para producir una solución; b) eliminar bacterias de la solución producida usando un filtro estéril; y c) mezclar ácido hialurónico y/o un modificador de pH con la solución libre de bacterias.

La presente descripción proporciona un relleno preparado mediante el método de preparación descrito anteriormente.

La presente descripción proporciona una jeringa prerrellenada llena con el relleno descrito anteriormente.

Solución técnica

De aquí en adelante, la presente descripción se describirá en detalle. Todas las combinaciones de una variedad de elementos descritos en la presente descripción caen dentro del alcance de la presente descripción. Además, no se considera que el alcance de la presente descripción esté limitado por la descripción detallada a continuación.

La descripción preestablecida proporciona un método para preparar un relleno, que incluye: a) etapa de mezclar una fracción de ADN con un disolvente para producir una solución; b) etapa de eliminar bacterias de la solución producida usando un filtro estéril; y c) etapa de mezclar ácido hialurónico y/o un modificador de pH con la solución libre de bacterias.

Cada etapa del método de preparación se describirá en detalle a continuación.

En la presente descripción, la etapa a) de mezcla es una etapa de mezclar la fracción de ADN con el disolvente

para producir la solución en la que se disuelve la fracción de ADN.

En la presente descripción, la "fracción de ADN" significa un polímero de tipo cadena formado uniendo covalentemente el tercer carbono de una pentosa que constituye un nucleótido al grupo ácido fosfórico de otro nucleótido. El nucleótido es una molécula a la que están unidos independientemente un ácido fosfórico, un azúcar y una base, y es una unidad que constituye un ácido nucleico que contiene adenina (A), guanina (G), citosina (C), timina (T), y uracilo (U).

En la presente descripción, la fracción de ADN puede promover la producción de matriz extracelular (MEC), que es una matriz intercelular, y puede activar la capacidad de curación de la piel en el cuerpo humano. Por esta razón, la piel puede funcionar para restaurar por sí misma la capacidad de regeneración deteriorada y debilitada, por lo que la fracción de ADN puede servir para mejorar la funcionalidad de la propia piel.

En la presente descripción, la fracción de ADN puede incluir la propia fracción de ADN, una sal de la misma o una combinación de estas. Además, la fracción de ADN puede sintetizarse directamente o adquirirse a partir de un producto disponible comercialmente para su uso.

En la presente descripción, la fracción de ADN puede ser polinucleótido (PN), polidesoxirribonucleótido (PDRN) o una mezcla de estos, e incluye fragmentos de estos. De acuerdo con modalidades de la presente descripción, la fracción de ADN puede ser polinucleótido, pero no se limita a este.

En la presente descripción, una sal de polinucleótido puede ser, por ejemplo, polinucleótido de sodio, polinucleótido de potasio, polinucleótido de calcio, polinucleótido de magnesio, polinucleótido de zinc y lo similar. Además, una sal de polidesoxirribonucleótido puede ser, por ejemplo, polidesoxirribonucleótido de sodio, polidesoxirribonucleótido de potasio, polidesoxirribonucleótido de calcio, polidesoxirribonucleótido de magnesio, polidesoxirribonucleótido de zinc y lo similar. Sin embargo, la sal de polinucleótido y la sal de polidesoxirribonucleótido no se limitan a estas. De acuerdo con modalidades de la presente descripción, la sal de polinucleótido puede ser polinucleótido de sodio, pero no se limita a este.

En la presente descripción, la fracción de ADN puede tener un peso molecular de 1800 kDa a 6000 kDa, preferentemente en el rango de 1800 kDa a 2300 kDa, y con

mayor preferencia en el rango de 2000 kDa a 2300 kDa. Sin embargo, el peso molecular de la fracción de ADN no se limita a este.

Cuando el peso molecular de la fracción de ADN es inferior al rango anterior, la viscoelasticidad del relleno finalmente preparada puede ser extremadamente baja y el relleno puede no funcionar como soporte físico. Cuando el peso molecular de la fracción de ADN excede el rango anterior, el propio peso molecular puede causar problemas, tales como velocidad de preparación, bloqueo del filtro y lo similar, en la aplicación del filtro estéril, reduciendo así la eficiencia de la preparación.

En la presente descripción, la fracción de ADN puede mezclarse para incluirse en una concentración en un rango de 0,5 % (p/v) a 2 % (p/v) y preferentemente en el rango de 1 % (p/v) a 1,5 % (p/v), con respecto al volumen total del relleno final, pero no se limita a este.

Cuando se mezcla la mezcla de ADN por debajo del rango anterior, los efectos de la fracción de ADN, por ejemplo, la regeneración de la piel, el aumento de la densidad de la piel, la estimulación de la producción de colágeno y lo similar, pueden ser marginales. Además, la viscoelasticidad requerida como soporte físico puede ser escasa. Cuando se incluye la mezcla de ADN por encima del

rango anterior, la viscoelasticidad aumentada del relleno preparado puede causar dolor cuando se inyecta en la piel, dando baja satisfacción a los pacientes y también incomodando a los profesionales.

Cualquier disolvente capaz de disolver la fracción de ADN sin causar una disminución en la eficiencia de preparación en la aplicación del filtro estéril puede usarse como disolvente en la etapa a) de mezcla de la presente descripción. Sin embargo, de acuerdo con modalidades de la presente descripción, el disolvente es preferentemente agua para inyección.

En el ejemplo experimental que se describirá más adelante, se confirmó específicamente que cuando se usa agua para inyección como disolvente, la velocidad de eliminación de bacterias en la etapa b) de eliminación, al que se aplica el filtro estéril, fue rápida, y pudo evitarse el bloqueo del filtro estéril, mejorando así significativamente la eficiencia de la preparación.

En la presente descripción, la etapa a) de mezcla puede incluir además agitar la solución después de mezclar la fracción de ADN con el disolvente de manera que la fracción de ADN puede distribuirse uniformemente (u homogéneamente) en el disolvente.

La agitación puede aumentar la velocidad de eliminación de bacterias con el uso del filtro estéril en la etapa b) de eliminación. Además, puede evitarse el bloqueo del filtro causado por la agregación de la fracción de ADN, resultando en un aumento de la eficacia de la preparación.

En la presente descripción, la etapa b) de eliminación es una etapa de eliminación de bacterias de la solución producida, en la que se disuelve la fracción de ADN, usando el filtro estéril.

En la presente descripción, el "filtro estéril", usado durante un bioproceso, o procesos de llenado y formulación, significa un filtro hecho principalmente de PES, PVDF, nailon o PTFE como materia prima.

En la presente descripción, el filtro estéril puede tener un tamaño de poro adecuado para eliminar bacterias dañinas. De acuerdo con modalidades de la presente descripción, el filtro estéril puede tener un tamaño de poro de 0,2 μm , pero no se limita a este.

En la presente descripción, el orden de introducción de la etapa b) de eliminación, a la que se aplica el filtro estéril, es importante para la integridad del relleno preparado y la eficiencia de la preparación. Es decir, para los fines de la presente descripción, es necesario realizar la etapa b) de eliminación antes de mezclar el ácido hialurónico y/o el

modificador de pH. En lugar de aplicar cada filtro estéril a la solución en la que se disuelve la fracción de ADN y la solución en la que se disuelven el ácido hialurónico y/o el modificador de pH, y después mezclar las soluciones, mezclar el ácido hialurónico y/o el modificador de pH después de aplicar el filtro estéril a la solución en la que se disuelve la fracción de ADN es ventajoso en términos de velocidad de filtración.

En la presente descripción, la etapa c) de mezcla es una etapa de mezclar el ácido hialurónico y/o el modificador de pH con la solución libre de bacterias.

En la presente descripción, el "ácido hialurónico" es un material biopolimérico, un polisacárido lineal compuesto de ácido glucurónico y acetilglucosamina, que es uno de los glucosaminoglicanos presentes en la matriz extracelular (MEC), el líquido sinovial de las articulaciones y los armazones para cartílago. El ácido hialurónico tiene propiedades viscoelásticas y, por tanto, puede usarse como suplemento para la piel y lo similar. Además, el ácido hialurónico es un material que tiene una excelente biocompatibilidad y no tiene ningún problema en términos de inmunidad cuando se aplica in vivo.

En la presente descripción, el significado de ácido hialurónico abarca todo el ácido hialurónico en sí, una sal de este o una combinación de estos. Además, el ácido hialurónico

puede sintetizarse directamente o adquirirse a partir de un producto disponible comercialmente para su uso.

La sal de ácido hialurónico puede ser, por ejemplo, hialuronato de sodio, hialuronato de potasio, hialuronato de calcio, hialuronato de magnesio, hialuronato de zinc o hialuronato de cobalto, pero no se limita a estos. De acuerdo con modalidades de la presente descripción, la sal de ácido hialurónico puede ser hialuronato de sodio, pero no se limita a este.

En la presente descripción, el ácido hialurónico puede tener un peso molecular en el rango de 100 kDa a 5000 kDa, preferentemente en el rango de 500 kDa a 1200 kDa y con mayor preferencia en el rango de 700 kDa a 1200 kDa.

Cuando el peso molecular del ácido hialurónico es menor al rango anterior, la viscosidad del relleno finalmente preparado puede ser extremadamente baja y el relleno puede no funcionar adecuadamente como un soporte físico. Cuando el peso molecular del ácido hialurónico excede el rango anterior, la viscosidad del relleno finalmente preparado puede ser extremadamente alta, lo que no es adecuado para el uso previsto de la presente descripción, por ejemplo, uso para reducir arrugas leves, y puede causar dolor cuando se inyecta en la piel.

En la presente descripción, el ácido hialurónico puede no estar reticulado (o no entrecruzado).

En el caso de los rellenos existentes, se usa un agente reticulante para prevenir la degradación del ácido hialurónico causada por una bioenzima y para mejorar la elasticidad. El agente reticulante se prepara principalmente usando agentes reticulantes químicos, tales como éter diglicidílico de 1,4-butanodiol (BDDE), divinilsulfona (DVS) y lo similar. Debido a los efectos secundarios y cuestiones de seguridad de dichos agentes químicos reticulantes, una etapa de lavado es esencial en el proceso de preparación. Además, es problemático que se requiera comprobar la cantidad residual del agente reticulante, resultando en una disminución de la eficacia del proceso de preparación.

En la preparación de relleno de la presente descripción, se usa ácido hialurónico no reticulado, por lo que la etapa de lavado o la etapa de verificar la cantidad residual del agente reticulante, necesariamente requerida en el caso de usar el agente reticulante, no se requiere. De esta manera, puede maximizarse la eficacia del proceso de preparación. Además, a pesar de usar ácido hialurónico no reticulado, el relleno preparado mediante el método de preparación de la presente descripción puede obtener una tasa de degradación in vivo no inferior a la de los

productos existentes. Como resultado, el relleno de la presente descripción puede tener una duración más larga de reparación de tejido y lograr una mejor formación de colágeno que los productos existentes, haciendo así un buen uso de este como relleno para inyección in vivo.

En la presente descripción, el ácido hialurónico puede mezclarse para incluirse en una concentración en un rango de 0,1 % (p/v) a 1 % (p/v) con respecto al volumen total del relleno final.

Cuando la concentración de ácido hialurónico es inferior al rango anterior, la viscosidad del relleno finalmente preparado puede ser extremadamente baja y el relleno puede no funcionar como un soporte físico. Cuando la concentración de ácido hialurónico excede el rango anterior, la viscosidad del relleno finalmente preparado puede ser extremadamente alta, causando dolor cuando se inyecta en la piel. Además, el relleno puede ser inadecuado para el uso previsto de la presente descripción, por ejemplo, uso para reducir arrugas leves.

En la presente descripción, el "modificador del pH" significa un material usado para regular o estabilizar el pH.

El modificador de pH puede ser, por ejemplo, cloruro de sodio, monohidrógenofosfato de sodio, dihidrógenofosfato de sodio o una mezcla de estos, pero no se limita a estos.

En la presente descripción, el modificador de pH puede incluir uno en una forma concentrada disuelto en el disolvente, tal como agua para inyección y lo similar. Es decir, en la presente descripción, el propio modificador de pH puede mezclarse con la solución libre de bacterias en la etapa b) de eliminación. Alternativamente, el modificador de pH puede disolverse en el disolvente, tal como agua para inyección y lo similar, concentrarse y después mezclarse con la solución libre de bacterias en la etapa b) de eliminación.

En la etapa c) de mezclado de la presente descripción, puede mezclarse al menos uno seleccionado entre el ácido hialurónico y modificador de pH. Por ejemplo, en la etapa c) de mezclado, se puede mezclar el ácido hialurónico o el modificador de pH, o se pueden mezclar tanto el ácido hialurónico como el modificador de pH.

En el caso de mezclar tanto el ácido hialurónico como el modificador de pH en la etapa c) de mezclado de la presente descripción, el ácido hialurónico y el modificador de pH se mezclan de manera gradual. Alternativamente, el ácido hialurónico y el modificador de pH pueden mezclarse primero y después mezclar con la solución libre de bacterias en la etapa b) de eliminación.

De acuerdo con modalidades de la presente descripción, en el caso de mezclar el ácido hialurónico y el

modificador de pH de manera gradual, la etapa c) de mezclado puede incluir: c-1) etapa de mezclar el ácido hialurónico en la solución libre de bacterias producida en la etapa b) de eliminación, para obtener una mezcla; y c-2) etapa de mezclar el modificador de pH en la mezcla obtenida.

En el caso de mezclar el modificador de pH en la etapa c) de mezclado de la presente descripción, el modificador de pH puede mezclarse en una cantidad que permita que el relleno preparado tenga un pH en un rango de 6,0 a 8,0.

En la presente descripción, como las etapas a) a la c) se realizan secuencialmente, no se requiere una etapa de secado, a diferencia del caso de usar un método convencional en el que una solución libre de bacterias se seca y después se vuelve a disolver para preparar una fracción. Como resultado, puede maximizarse la eficiencia del proceso de preparación mientras se mantienen las condiciones estériles minimizando la posibilidad de contaminación desde el exterior según el número reducido de etapas.

El método de preparación de la presente descripción puede incluir además mezclar un agente anestésico, y el agente anestésico se mezcla preferentemente después de la etapa c) de mezclado.

En la presente descripción, el término "agente anestésico" significa un componente usado para aliviar la picazón y el dolor causados por la inflamación de la piel. Los ejemplos del agente anestésico pueden incluir procaína, cloroprocaína, tetracaína, prilocaína, lidocaína, mepivacaína, bupivacaína, ropivacaína, etidocaína, clorhidrato de lidocaína, benzocaína, oxetacaína y lo similar. De acuerdo con una modalidad de la presente descripción, el agente anestésico es preferentemente lidocaína o una sal de esta (por ejemplo, monohidrato de clorhidrato de lidocaína), pero no se limita a este.

En la presente descripción, la lidocaína, usada para anestesia local, también puede tener el efecto de mejorar la elasticidad del tejido fibroso en combinación con el polinucleótido y/o ácido hialurónico.

En la presente descripción, el agente anestésico se puede mezclar para incluirse en una concentración en un rango de 0,2 % (p/v) a 0,4 % (p/v) con respecto al volumen total del relleno final. De acuerdo con modalidades de la presente descripción, el agente anestésico se puede mezclar para incluirlo al 0,3 % (p/v). Cuando se incluye el agente anestésico por debajo del rango anterior, el efecto anestésico puede ser escaso. Cuando se incluye el agente anestésico por encima del rango anterior, el efecto anestésico puede durar

mucho tiempo y, por tanto, los pacientes pueden tener dificultades para volver rápidamente a su vida diaria mediante un procedimiento rápido y sencillo. Además, la toxicidad puede provocar efectos secundarios.

De acuerdo con otro aspecto de la presente descripción, se proporciona un relleno preparado mediante el método de preparación de la presente descripción.

En la presente descripción, el relleno puede incluir la fracción de ADN en una concentración en un rango de 0,5 % (p/v) a 2 % (p/v) y el ácido hialurónico en una concentración en un rango de 0,1 % (p/v) al 1 % (p/v), respecto del volumen total del relleno final.

Cuando el relleno preparado mediante el método de preparación de la presente descripción incluye la fracción de ADN y ácido hialurónico en concentraciones inferiores a los rangos anteriores, la viscosidad del relleno finalmente preparado puede ser extremadamente baja y el relleno puede fallar al funcionar como un agente físico. Cuando el relleno preparado mediante el método de preparación de la presente descripción incluye la fracción de ADN y ácido hialurónico en concentraciones que exceden los rangos anteriores, la viscosidad del relleno finalmente preparado puede ser extremadamente alta, provocando dolor cuando se inyecta en la piel. Además, el relleno puede ser inadecuado para el uso

previsto de la presente descripción, por ejemplo, uso para reducir arrugas leves.

En la presente descripción, el relleno puede tener una viscosidad compleja en un rango de 0,3 Pa·s a 3 Pa·s, preferentemente en el rango de 1 Pa·s a 3,0 Pa·s, a una temperatura de 25 °C cuando se mide con un reómetro. De acuerdo con modalidades de la presente descripción, la viscosidad compleja puede estar en un rango de 1 Pa·s a 1,5 Pa·s, pero no se limita a este.

En la presente descripción, el relleno puede tener un módulo de almacenamiento G' de 5 Pa o superior a una temperatura de 25 °C cuando se mide con un reómetro.

En la presente descripción, la "viscosidad compleja (η^*)" es el resultado de una interacción compleja entre viscosidad y elasticidad y significa una expresión matemática representada por la suma de números reales e imaginarios.

En la presente descripción, el "módulo de almacenamiento", relacionado con la elasticidad, significa una medida de energía almacenada, indicando que cuanto mayor sea el módulo de almacenamiento, mayor será la fuerza para volver a su estado original.

A pesar de las bajas cantidades de la fracción de ADN y ácido hialurónico, el relleno preparado mediante el método de preparación de la presente descripción puede obtener

una viscosidad compleja y un módulo de almacenamiento adecuado para el uso previsto de la presente descripción.

En la presente descripción, el relleno puede usarse para la reparación de tejidos. Específicamente, el relleno puede usarse para reducir las arrugas leves o el contorno facial, y es más específicamente para reducir las arrugas leves.

Las arrugas, evaluadas en ensayos clínicos de acuerdo con la escala de puntuación de la severidad de arrugas (WSRS), se pueden dividir en 5 grados, que son ausentes, leves, moderadas, graves y extremas.

La toxina botulínica convencional por sí sola tiene limitaciones terapéuticas en el tratamiento de las arrugas leves. Además, debido a la viscosidad de los productos de relleno existentes, la administración directa a la capa dérmica, que desempeña un papel clave en la producción de colágeno, tiene limitaciones. Es decir, es importante obtener una viscosidad compleja y un módulo de almacenamiento adecuados para su uso como rellenos dérmicos para inyección. En particular, se requiere que los rellenos usados para las arrugas tengan una viscosidad compleja adecuada de acuerdo con las condiciones de las arrugas, divididas desde arrugas leves a severas.

El relleno preparado mediante el método de preparación de la presente descripción exhibe una viscosidad compleja en un rango de 0,3 Pa·s a 3,0 Pa·s y, por lo tanto, puede usarse efectivamente para reducir las arrugas leves. Además, en comparación con los rellenos inyectados en toda la cara, el relleno de la presente descripción presenta una presión de inyección baja, provocando poco dolor incluso cuando se aplica a la piel fina, como la zona de los ojos. De acuerdo con los ejemplos experimentales que se describirán a continuación, se confirmó que a pesar de la baja cantidad de fracción de ADN en comparación con la de los productos de relleno disponibles convencionalmente, el relleno de la presente descripción es superior en términos de regeneración de la piel, capacidad de formación de colágeno y lo similar, y se puede garantizar un aspecto natural, en comparación con el que se obtiene al usar los productos de relleno existentes.

En la presente descripción, el relleno puede usarse para reducir las patas de gallo. El tejido de la piel alrededor de los ojos es extremadamente fino, por lo que responde con sensibilidad a la microestimulación y corresponde a la zona donde es probable que se formen las arrugas. Típicamente, las arrugas alrededor del área de los ojos incluyen arrugas en forma de patas de gallo formadas en las esquinas exteriores de los ojos y arrugas debajo de los

ojos. El relleno de la presente descripción tiene una viscosidad relativamente baja y, por lo tanto, puede aplicarse efectivamente a arrugas leves formadas en tejido cutáneo fino, como el área de los ojos.

A un sujeto se le puede administrar el relleno de la presente descripción en una cantidad efectiva mediante inyección subcutánea, inyección intradérmica y lo similar.

En la presente descripción, la "cantidad efectiva" significa una cantidad de relleno suficiente para mostrar efectos cosméticos o terapéuticos beneficiosos de la inyección de relleno. El nivel de la cantidad efectiva puede determinarse por un operador de acuerdo con factores que incluyen edad, sexo, sensibilidad, tiempo de inyección, estado de las arrugas y lo similar del sujeto, así como otros factores bien conocidos en el campo médico.

Además, las inyecciones de relleno pueden realizarse, por ejemplo, una vez, varias veces y/o durante uno o más períodos de tiempo prolongados.

En la presente descripción, el "sujeto" significa un individuo o paciente que necesita tratamiento para una afección o enfermedad específica. El sujeto puede ser un mamífero y preferentemente es un ser humano.

En la presente descripción, el relleno puede ser un mesorelleno inyectado mediante mesoterapia.

En la presente descripción, la "mesoterapia", en la que se inyecta un relleno directamente en un área objetivo, significa una terapia de inyección que tiene como objetivo minimizar los efectos secundarios, mejorar la eficacia y prolongar la duración inyectando el relleno en una cantidad extremadamente pequeña en una capa intermedia de piel (capa dérmica de la piel) usando una microjeringa.

En la presente descripción, el "mesorelleno", una palabra compuesta para mesoterapia y relleno, se usa con el fin de suavizar las arrugas mediante la inyección de un relleno entre una capa dérmica de la piel y el tejido fibroso, y puede exhibir efectos de regeneración de la piel, mejora de la elasticidad, y reducir las líneas finas.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente descripción, se proporciona una jeringa prerrellenada llena con el relleno preparado mediante el método de preparación de la presente descripción.

A menos que se especifique lo contrario, la descripción detallada relacionada con el relleno y la jeringa prerrellenada en la presente descripción es la misma que las mencionadas en el método de preparación del relleno. Por lo tanto, se omitirá una descripción separada para evitar excesiva complicidad de la especificación.

Efectos ventajosos

En un método de preparación de relleno de la presente descripción, un relleno preparado de esta manera puede obtener la viscoelasticidad requerida como un soporte físico.

Además, en el método de preparación de relleno de la presente descripción, se puede evitar un cambio en el contenido de la fracción de ADN en una etapa de eliminación de bacterias. Por lo tanto, a pesar del bajo contenido de la fracción de ADN en comparación con el de los productos existentes, el relleno preparado tiene excelentes efectos de mejorar el espesor de la piel y reducir las arrugas de la piel, la capacidad de formación de colágeno y lo similar.

Además, en el método de preparación de relleno de la presente descripción, se usa el bajo contenido de la fracción de ADN, por lo que el relleno preparado causa poco dolor en comparación con los rellenos actualmente disponibles y, por lo tanto, brinda satisfacción a los pacientes y al mismo tiempo hace que los profesionales se sientan cómodos.

Además, en el método de preparación de relleno de la presente descripción, se usa ácido hialurónico no reticulado, por lo que las etapas, tales como una etapa de lavado para eliminar un agente reticulante, una etapa para verificar la cantidad residual del agente reticulante, y lo

similar, son innecesarios. Como resultado, la eficiencia del proceso de preparación es excelente y la estabilidad del relleno preparado es excelente porque no se encuentran respuestas inflamatorias de acuerdo con el uso del agente reticulante.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 muestra un gráfico que compara las tasas de degradación in vivo de una muestra de relleno del Ejemplo 3 y un producto de otros fabricantes en el Ejemplo experimental 7; y

la Figura 2 muestra imágenes de muestras de relleno del Ejemplo 2 y los Ejemplos comparativos 4 a 6 en el Ejemplo experimental 8, en el que la Figura 2(a) muestra una imagen inmediatamente después de la preparación, y la Figura 2(b) muestra una imagen después de dejar las muestras de relleno a una temperatura de 35 °C durante 2 semanas.

EL MEJOR MODO

De aquí en adelante, la presente descripción se describirá en detalle con referencia a modalidades. Sin embargo, las modalidades de la presente descripción se describen solo con fines ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes de la presente descripción. Además, a menos que se defina lo contrario, todos los términos usados en la presente descripción tienen el mismo significado que se entiende comúnmente en la técnica a la que pertenece la presente descripción.

Ejemplo 1 y Ejemplos comparativos 1 a 3

6,25 g de polinucleótido de sodio (fabricante: HTL, peso molecular: 1800 kDa a 2300 kDa) se disolvió en agua para inyección o solución salina regulada con fosfato para producir cada solución que contenía polinucleótido de sodio a una concentración del 1,25 % (p/v). Cada una de las soluciones se configuró para que tuviera un volumen de 500 ml y un pH en un rango de 6,0 a 8,0. Posteriormente, cada una de las soluciones disueltas no se procesaron, o se procesaron usando esterilización húmeda (a una temperatura de 121 °C durante 20 minutos) o un filtro estéril (0,2 µm, PES) para preparar rellenos.

Los disolventes y los métodos de proceso usados en cada uno de los ejemplos y ejemplos comparativos se muestran en la Tabla 1 a continuación.

[Tabla 1]

	Disolvente	Método de proceso
Ejemplo 1	Agua para inyección	Filtro estéril
Ejemplo comparativo 1	Agua para inyección	Sin procesar
Ejemplo comparativo 2	Agua para inyección	Esterilización húmeda
Ejemplo comparativo 3	Solución salina regulada con fosfato	Filtro estéril

Ejemplo experimental 1. Análisis de propiedades reológicas

Se usó un reómetro (KNX2210, MALVERN, Reino Unido) para analizar las propiedades reológicas de los rellenos preparados de acuerdo con los disolventes y los métodos del proceso. Los resultados de estos se muestran en la Tabla 2 a continuación.

Un relleno para la reparación de tejidos funciona como un soporte físico después de inyectarse en la piel, por lo que los valores del módulo de almacenamiento (G') y la viscosidad compleja (η^*) se consideraron como los factores más importantes.

[Tabla 2]

	G^* (Pa)	G' (Pa)	G'' (Pa)	η^* (Pa·s)	δ (°)
Ejemplo 1	3,39305	1,3815	3,099	0,54005	65,975
Ejemplo comparativo 2	0,08717	0,086865	0,0071915	0,01387	-4,805
Ejemplo comparativo 3	7,8095	6,3585	4,5345	1,243	35,49

Como se muestra en la Tabla 2 anterior, el relleno del Ejemplo comparativo 2 usando el método de esterilización húmeda exhibió una viscosidad compleja significativamente menor que el relleno del Ejemplo 1 usando el filtro estéril en el método de preparación, lo que confirma que el relleno del Ejemplo comparativo 2 era inapropiado para usarse como relleno para la reparación del tejido necesario para funcionar como el soporte físico después de inyectarse en la piel.

Además, en el caso del Ejemplo comparativo 3 usando solución salina regulada con fosfato como disolvente, el módulo de almacenamiento y la viscosidad compleja fueron extremadamente altos. En particular, la velocidad de filtrado fue extremadamente lenta en el proceso de eliminación de bacterias y el bloqueo del filtro se produjo rápidamente. Por esta razón, el relleno del Ejemplo comparativo 3 era inapropiado para su uso en el método de preparación de relleno de la presente descripción.

Ejemplo experimental 2. Medición del contenido de sodio en polinucleótidos

Para confirmar un cambio en el contenido de polinucleótido de sodio de acuerdo con los métodos de proceso realizados en los rellenos preparados, se usó HPLC para medir el contenido de este. Los resultados de los mismos se muestran en la Tabla 3 a continuación.

[Tabla 3]

	Contenido de polinucleótido de sodio(%)
Ejemplo 1	107,72
Ejemplo comparativo 1	106,73
Ejemplo comparativo 2	94,87

Como se muestra en la Tabla 3 anterior, el relleno del Ejemplo 1 usando el filtro estéril en el método de preparación exhibió el contenido de polinucleótido de sodio no inferior al del grupo sin procesar, lo que confirma que el método de usar el filtro estéril apenas afectó el contenido de polinucleótido de sodio. Por otro lado, se confirmó una disminución significativa en el contenido de polinucleótido de sodio en el Ejemplo comparativo 2 usando el método de esterilización húmeda.

Ejemplo 2 y Ejemplos comparativos 4 a 6

(1) Preparación del Ejemplo 2

6,25 g de polinucleótido de sodio (fabricante: HTL, peso molecular: 1800 kDa a 2300 kDa) se disolvió en agua para inyección y después la solución disuelta se preprocesó usando un filtro estéril (0,2 μ m, PES).

Después, hialuronato de sodio no reticulado (peso molecular: 700 kDa a 1200 kDa) se disolvió completamente en la solución y después se le añadió solución salina regulada con fosfato concentrada de manera que la solución resultante tuvo un volumen de 500 ml y un pH en un rango de 6,0 a 8,0. Como resultado, se preparó un relleno del Ejemplo 2 que contenía polinucleótido de sodio e hialuronato de sodio no reticulado en concentraciones finales de 10 mg/ml y 3 mg/ml, respectivamente.

(2) Preparación de los Ejemplos comparativos 4 a 6

Polinucleótido de sodio (fabricante: HTL, peso molecular: 1800 kDa a 2300 kDa) e hialuronato de sodio no reticulado (peso molecular: 700 kDa a 1200 kDa) con solución salina regulada con fosfato y se disolvieron para preparar un relleno del Ejemplo comparativo 4.

Además, polinucleótido de sodio (fabricante: HTL, peso molecular: 1800 kDa a 2300 kDa) e hialuronato de sodio no reticulado (peso molecular: 700 kDa a 1200 kDa) se mezclaron con solución salina regulada con fosfato y se disolvieron. Después, usando esterilización húmeda o un filtro estéril (0,2 μ m, PES) para la eliminación de bacterias, respectivamente, se prepararon independientemente un relleno del Ejemplo comparativo 5 (esterilizada en húmedo) y un relleno del Ejemplo comparativo 6 (eliminadas las bacterias).

Cada uno de los rellenos de los Ejemplos comparativos 4 a 6 se ajustó para que contuviera polinucleótido de sodio e hialuronato de sodio no reticulado en concentraciones finales de 10 mg/ml y 3 mg/ml, respectivamente.

Ejemplo experimental 3. Análisis de propiedades reológicas

Se usó un reómetro (KNX2210, MALVERN, Reino Unido) para analizar las propiedades reológicas de acuerdo con los métodos de preparación de los rellenos preparados. Los resultados de los mismos se muestran en la Tabla 4 a continuación.

[Tabla 4]

	G^* (Pa)	G' (Pa)	G'' (Pa)	η^* (Pa·s)	δ (°)
Ejemplo 2	8,094	5,712	5,734	1,288	45,11
Ejemplo comparativo 5	0,1084	0,07653	0,07679	0,01725	45,1
Ejemplo comparativo 6	6,682	4,365	5,0585	1,0635	49,22

Como se muestra en la Tabla 4 anterior, en el caso de los rellenos de los Ejemplos comparativos 5 y 6 que usan la esterilización húmeda y el filtro estéril, respectivamente, después de disolver simultáneamente el polinucleótido de sodio y el hialuronato de sodio no reticulado, las propiedades viscoelásticas se deterioraron en comparación con las del relleno del Ejemplo 2 que se preparó mediante un proceso gradual después de disolver el polinucleótido de sodio en agua para inyección. En particular, el relleno del Comparativo 5 preparado mediante esterilización exhibió una viscosidad compleja significativamente baja, lo que confirma que el relleno del Comparativo 5 era inapropiado para usarse como relleno para la reparación de tejido requerida para funcionar como un soporte físico después de inyectarse en la piel.

Además, en el caso del Ejemplo comparativo 6, la velocidad de filtrado fue significativamente baja en el proceso de eliminación de bacterias y el bloqueo del filtro

se produjo rápidamente, lo que confirma que había un problema en la eficiencia de la preparación.

Ejemplo experimental 4. Confirmación del contenido de sodio del polinucleótido

Para confirmar un cambio en el contenido del componente principal de acuerdo con los métodos de preparación de los rellenos preparados, se usó HPLC para medir el contenido de polinucleótido de sodio. Los resultados de estos se muestran en la Tabla 5 a continuación.

[Tabla 5]

	Contenido de polinucleótido de sodio(%)
Ejemplo 2	106,92
Ejemplo comparativo 4	107,02
Ejemplo comparativo 5	101,23
Ejemplo comparativo 6	104,04

Como se muestra en la Tabla 5 a continuación, el relleno del Ejemplo 2 preparado mediante el método de preparación de la presente descripción exhibió un contenido de polinucleótido de sodio no inferior al del Ejemplo comparativo 4, sin involucrar la eliminación de bacterias por separado después de la mezcla simple, lo que apenas afectó el contenido de polinucleótido de sodio. Por otro lado, en el caso de los Ejemplos comparativos 5 y 6 que implican la esterilización y la

eliminación de bacterias, respectivamente, después de mezclar polinucleótido de sodio y hialuronato de sodio no reticulado, se confirmó una disminución en el contenido de polinucleótido de sodio.

Esto significa que, en la preparación, el contenido del polinucleótido de sodio, un ingrediente activo contenido en el relleno final, puede variar de acuerdo con el orden del proceso.

Ejemplo experimental 5. Medición de la presión de inyección

Se examinó si el relleno preparado mediante el método de preparación de la presente descripción tenía una alta adaptabilidad a un paciente cuando se usa para inyección mediante el análisis de la presión de inyección (fuerza de inyección). Los resultados de los mismos se muestran en la Tabla 6 a continuación.

La presión de inyección se midió usando un probador de resistencia a la tracción (JSV H1000, JISC, JAPÓN) con una aguja de inyección de 33 G a velocidades de prueba de 5 mm/min y 30 mm/min.

[Tabla 6]

	5 mm/minuto	30 mm/min
--	-------------	-----------

Ejemplo 2	4,19 N	10,38 N
------------------	--------	---------

Como se muestra en la Tabla 6 anterior, se confirmó que el relleno preparado mediante el método de preparación de la presente descripción tiene una presión de inyección baja. Esto confirma que el relleno causa menos dolor cuando se inyecta a los pacientes y hace que los profesionales se sientan más cómodos.

Ejemplo 3

6,25 g de polinucleótido de sodio (fabricante: HTL, peso molecular: 1800 kDa a 2300 kDa) se disolvió completamente en agua para inyección y después se filtró para eliminar las bacterias. Después, hialuronato de sodio no reticulado (peso molecular: 700 kDa a 1200 kDa) y solución salina regulada con fosfato concentrada se le añadió de manera que la solución resultante tuvo un volumen de 500 ml y un pH en un rango de 6,0 a 8,0. Como resultado, se preparó un relleno del Ejemplo 3 que contenía polinucleótido de sodio e hialuronato de sodio no reticulado en concentraciones finales de 10 mg/ml y 3 mg/ml, respectivamente.

Ejemplo experimental 6. Evaluación de la reducción de arrugas y producción de colágeno

En el Ejemplo experimental 6, se realizó una evaluación comparativa de la reducción de arrugas y la producción de colágeno mediante evaluación de la eficacia en animales.

Específicamente, el relleno preparado del Ejemplo 3 se inyectó en un ratón sin pelo SKH-1. Después, se midió el volumen del sitio de inyección durante un mes mientras se realizaba la evaluación histopatológica. Como grupo de control se usó un producto de relleno de polinucleótido (con un contenido de polinucleótido de sodio del 2 %) actualmente a la venta.

Los resultados de los mismos se muestran en la Tabla 7 a continuación.

[Tabla 7]

	Grosor total de la piel* (μm)	Grosor epidérmico (μm)	Micropliegues epidérmicos (micropliegues/mm)	Fibras de colágeno (%/mm ²)
Ejemplo 3	4,93	24,89	15,6	10,80
Producto de otros fabricantes.	4,76	21,55	17,55	6,81

(*El espesor total de la piel se describe en una escala de 1/100)

Como se confirma en la Tabla 7 anterior, se confirmó que el relleno preparado mediante el método de preparación de la presente descripción tiene efectos superiores para mejorar el espesor de la piel y reducir las arrugas de la piel, así como para formar colágeno en el producto de otros fabricantes.

Por otro lado, no se encontraron materiales remanentes en el relleno del Ejemplo 3 preparado mediante el método de preparación de la presente descripción, después de la inyección. Además, apenas se observaron reacciones a cuerpos extraños y reacciones adversas causadas por la inyección del Ejemplo 3 durante el período de prueba (1 mes), lo que confirma que la estabilidad también era buena.

Ejemplo experimental 7. Evaluación de la tasa de degradación in vivo y el cambio de volumen

En el Ejemplo experimental 7, se realizó una evaluación comparativa de las tasas de degradación in vivo del relleno preparado mediante el método de preparación de la presente descripción y un relleno existente.

Específicamente, el relleno preparado del Ejemplo 3 se inyectó en un ratón sin pelo SKH-1 y se observó un cambio de volumen de una solución inyectable durante 30 horas. Como grupo de control se usó un producto de relleno

de polinucleótido (con un contenido de polinucleótido de sodio del 2 %) actualmente a la venta. Los resultados de estos se muestran en la Figura 1.

Como se confirma en la Figura 1, el tiempo para alcanzar la degradación completa se predijo usando una línea de tendencia después de la observación durante 30 horas. Como resultado, el tiempo previsto para alcanzar la degradación completa fue de aproximadamente 34 horas en el Ejemplo 3. Aunque la concentración de polinucleótido fue menor en el relleno del Ejemplo 3 que la del otro producto actualmente a la venta en el que el tiempo previsto para alcanzar la degradación completa fue de aproximadamente 37 horas, no hubo diferencia significativa en términos de la tasa de degradación in vivo.

Además, cuando se observaron cambios en el volumen de relleno de forma macroscópica, usando un foliscopio y PRIMOS, en el caso de inyectar el producto de relleno de otros fabricantes, el volumen se volvió pequeño manteniendo la forma inyectada. Por otro lado, en el caso de inyectar el relleno del Ejemplo 3, el volumen se volvió pequeño mientras que la forma inyectada se extendía de forma más natural hacia los lados, confirmando que el relleno del Ejemplo 3 tenía una estabilidad estética adecuada para ser usada como relleno de inyección para la piel.

Ejemplo experimental 8. Examen del efecto de acuerdo con la diferencia en el orden de la etapa de mezcla del polinucleótido y el ácido hialurónico no reticulado y la etapa de esterilización

En el Ejemplo experimental 8, se realizó una evaluación comparativa del efecto de acuerdo con una diferencia en el orden de la etapa de mezcla del polinucleótido y ácido hialurónico no reticulado y la etapa de esterilización, usando el relleno del Ejemplo 2 y los rellenos de los Ejemplos comparativos 4 a 6.

Específicamente, se examinó si el relleno del Ejemplo 2 y las muestras de relleno de los Ejemplos comparativos 4 a 6 estaban degeneradas o no mediante comparación inmediatamente después de las preparaciones respectivas y dejando cada una de las muestras de relleno a una temperatura de 35 °C durante 2 semanas. Los resultados de los mismos se muestran en la Figura 2.

Como se confirma en la Figura 2 (b), la muestra de relleno del Ejemplo comparativo 4 degeneró cuando transcurrieron dos semanas. Además, las muestras de relleno del Ejemplo 2 y de los Ejemplos comparativos 5 y 6 no degeneraron.

Sin embargo, cuando se compara el proceso de preparación, hubo un retraso en el filtrado de la muestra de relleno del Ejemplo comparativo 6, preparada filtrando la solución del polinucleótido y ácido hialurónico no reticulado para la eliminación de bacterias, tomando más tiempo en la preparación que ese en la preparación del relleno del Ejemplo 2. En el caso de la muestra de relleno del Ejemplo comparativo 5, se requirió que la esterilización húmeda se realizara a una temperatura de 121 °C durante 20 minutos, tomando más tiempo en la preparación que en la preparación del relleno del Ejemplo 2.

Por lo tanto, se confirmó que la muestra de relleno del Ejemplo 2, preparada filtrando rápidamente la solución de polinucleótidos para la eliminación de bacterias y después mezclando la solución con ácido hialurónico no reticulado, acortaba el tiempo de preparación mientras obtenía una integridad excelente, en comparación con las muestras de relleno de los Ejemplos comparativos 5 y 6.