



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	102015000086773
Data Deposito	22/12/2015
Data Pubblicazione	22/06/2017

Classifiche IPC

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K	36	48

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	P	1	04

Titolo

COMPOSIZIONI ORALI PER IL TRATTAMENTO DELLA MALATTIA DA REFLUSSO
GASTROESOFAGEO

10831 M Descrizione del brevetto per invenzione industriale avente per titolo:

PB/ap **“COMPOSIZIONI ORALI PER IL TRATTAMENTO DELLA MALATTIA DA REFLUSSO GASTROESOFAGEO”**

a nome : **SIIT HFS LIQUID SRL**

con sede in: Milano

* * *

La presente invenzione riguarda una composizione orale utile per il trattamento della malattia da reflusso gastroesofageo. La composizione orale secondo l'invenzione comprende estratto di tamarindo, acido alginico o suo sale, carbomer e un sale di carbonato e/o bicarbonato. Tale composizione è caratterizzata da rapidità di azione contro i sintomi del reflusso ed è particolarmente efficace in quanto non produce grumi insolubili nell'ambiente acido dello stomaco.

Sfondo dell'invenzione

La produzione di succo gastrico, contenente acido cloridrico, enzimi digestivi (pepsina) e muco, è un processo fisiologico necessario per la degradazione di alimenti, in modo da renderli disponibili per il successivo assorbimento nell'intestino. La mucosa gastrica sana è protetta dagli attacchi acidi, enzimatici o meccanici da uno strato aderente di muco, composto principalmente da mucina, acqua, cellule, bicarbonato e altri sali. Durante la digestione, gli stessi stimoli che inducono la secrezione acida stimolano contemporaneamente la produzione di una pellicola di muco. Tuttavia, alcune condizioni particolari influenzano negativamente lo strato protettivo di muco: per esempio, la secrezione gastrica di una quantità di acido cloridrico superiore al normale (iperacidità), con o senza dispepsia, l'uso di farmaci o

cibi irritanti (spezie, caffè, alcool, ecc), danni fisici o meccanici, ma anche ansia o stress, possono ridurre la capacità di protezione della barriera e mettere la mucosa gastrica in diretto contatto con sostanze irritanti. Ciò si traduce in irritazione delle mucose, con sintomi quali dolore, sensazione di bruciore, nausea post-prandiale, gonfiore, e può indurre gastrite cronica e in ultima analisi anche ulcerazioni della parete gastrica o duodenale.

Il reflusso gastroesofageo (GER) si verifica quando lo sfintere esofageo apre spontaneamente o non chiude per periodi di tempo variabili, causando la risalita dei succhi gastrici acidi insieme al cibo dallo stomaco all'esofago, talvolta anche fino alla bocca.

La sindrome da reflusso gastroesofageo (GERD) si verifica quando i principali episodi di reflusso si verificano con una frequenza di almeno due o tre volte alla settimana. Tale sindrome ha luogo a seguito della incompleta chiusura della valvola Cardias posta in cima allo stomaco e comporta dal semplice bruciore all'esofagite, a riflessi nervosi sul nervo vago, inspessimenti della zona esofagea (ernia iatale) e mutazioni dell'epitelio (esofago di Barrett).

La malattia può causare gravi complicazioni, soprattutto uno stato infiammatorio (esofagite da reflusso) cronico che, nel tempo, può causare sanguinamento e alterazioni della mucosa che restringono il lume dell'esofago e possono rendere la deglutizione difficile.

La GERD può anche favorire il cancro esofageo, che è preceduto da alterazioni della mucosa note come esofago di Barrett. Altri studi dimostrano che la GERD può anche peggiorare o contribuire a affezioni respiratorie (per esempio, l'asma, tosse cronica, e fibrosi polmonare). Quando un reflusso di

acidi dallo stomaco viene a contatto con il rivestimento dell'esofago, oltre a provocare un danno diretto alla mucosa, può causare una sensazione di bruciore al petto e alla gola chiamata "bruciore di stomaco".

Nei bambini, il bruciore di stomaco è raro, ed i sintomi più frequenti sono tosse secca, sintomi di asma, o problemi di deglutizione. Il motivo per cui alcune persone sviluppano GERD non è ancora completamente chiarito; in molti casi è associato ad ernia iatale, un'anomalia anatomica altrimenti asintomatica in cui la parte superiore dello stomaco e lo sfintere esofageo subiscono spostamento sopra la muscolatura del diaframma.

Altri fattori che contribuiscono alla malattia da reflusso gastroesofageo sono più legati allo stile di vita, ad esempio l'obesità, e il consumo frequente di fritti, cibi piccanti, cibi acidi o alcool. Osservazioni recenti hanno rivelato che il pH del reflusso è spesso più acido rispetto al concomitante pH intragastrico. Questo apparente paradosso ha portato alla scoperta della "tasca acida", una zona di acido gastrico non tamponato che si accumula nello stomaco prossimale dopo i pasti e funge da serbatoio per il reflusso acido in soggetti predisposti (Yamada, 2008, Kahrilas, 2013; Rohof, 2013). Il trattamento medico dell'iperacidità gastrica, reflusso esofageo e GERD può includere la somministrazione di una o più delle seguenti categorie di OTC o di farmaci da prescrizione:

- antiacidi che contengono diverse combinazioni di magnesio, calcio, alluminio e con idrossido o bicarbonato, per neutralizzare parzialmente l'acidità gastrica. Potenziali effetti collaterali intestinali di antiacidi sono diarrea o costipazione.

- procinetici, che comprendono tutte le sostanze che rendono più

veloce lo svuotamento dello stomaco. Questo gruppo comprende farmaci come il betanecolo e la metoclopramide, ma anche sostanze naturali come lo zenzero

- i beta-bloccanti del recettore H₂ dell'istamina quali cimetidina, famotidina, ranitidina, sono farmaci che diminuiscono la produzione di acido nello stomaco

- inibitori della pompa protonica, come ad esempio omeprazolo, esomeprazolo e pantoprazolo, sono inibitori della produzione di acido gastrico con un diverso meccanismo d'azione rispetto ai bloccanti dei recettori dell'istamina

- prostaglandin analoghi, come misoprostol, che inibiscono la produzione di acido legandosi ai recettori sulle cellule parietali EP₃, nonché stimolando mucina e la produzione di bicarbonato

- stimolatori di produzione dello ione bicarbonato nello stomaco, come carbenoxolone

- inibitori di rilassamento dello sfintere esofageo (TLESR)

- schiumanti e agenti citoprotettivi, come Gaviscon, contenenti sostanze che formano una schiuma che impedisce episodi di reflusso, coprendo lo stomaco e l'esofago inferiore. Sono di solito associati ad antiacidi ma possono essere utilizzati anche in combinazione con procinetici o inibitori della pompa protonica. Diversamente dai prodotti degli altri gruppi, questi dispositivi medici sono praticamente privi di effetti collaterali. Tali dispositivi medici sono a base di Acido alginico e suoi Sali, gli Alginati di sodio.

L'acido alginico è ampiamente presente nelle pareti cellulari delle alghe brune. E' un copolimero lineare con blocchi omopolimerici di β -D-

mannuronato (M) legati con legami covalenti 1-4 con residui del suo epimero α -L-gulonato (G) in differenti sequenze di blocchi. I monomeri possono essere blocchi omopolimerici di residui G consecutivi (blocchi G), blocchi di residui M consecutivi (blocchi M) o blocchi costituiti da residui M e G alternati (blocchi MG). A contatto con l'acqua forma un gel la cui viscosità dipende dalla concentrazione, dal pH e dalla presenza di elettroliti.

Gli alginati sono usati da tempo come addensanti e stabilizzanti nell'industria alimentare e farmaceutica.

Gli alginati descritti in GB1524740 sono alla base del prodotto Gaviscon. In ambiente fortemente acido quale quello dello stomaco formano gel densi e neutri che sono capaci di galleggiare sui succhi gastrici e formare uno strato spesso e denso, denominato "RAFT" (Zattera), che fa da tappo al reflusso gastroesofageo ed è in grado di arginare il rigurgito acido dallo stomaco verso l'esofago.

La formazione e la caratterizzazione del raft sono descritte nell'articolo "Alginate rafts and their characterisation" (Hampson FC1, Farndale A, Strugala V, Sykes J, Jolliffe IG, Dettmar PW).

In questo studio viene analizzata l'efficacia in vitro di una gamma di prodotti liquidi che formano raft coesi, voluminosi, resistenti a cedere e durevoli in condizioni di movimento (resilienti). I prodotti testati hanno capacità di neutralizzazione degli acidi (ANCS). Si è constatato che i prodotti con un ANC elevato e nessuna fonte di ioni calcio sono formazioni di bassa resistenza, peso e volume, più simili a precipitati galleggianti che a gel coerenti. I prodotti con un ANC elevato e una sorgente di ioni calcio hanno resistenza media. I prodotti con un basso ANC formano forti raft coerenti con

medie e grandi resistenze, quelli con basso ANC e una sorgente di ioni di calcio corrispondono a forti resistenze. Prodotti con raft forti sono risultati più resistenti, anche a riflusso in un modello in vitro.

In parallelo alle ANC le misure effettuate riguardano la Forza e la Resistenza al riflusso per estrusione attraverso un orifizio di detti raft.

Nella tabella 1 sono riportate le composizioni in attivi di alcune comuni preparazioni commerciali a base di alginati.

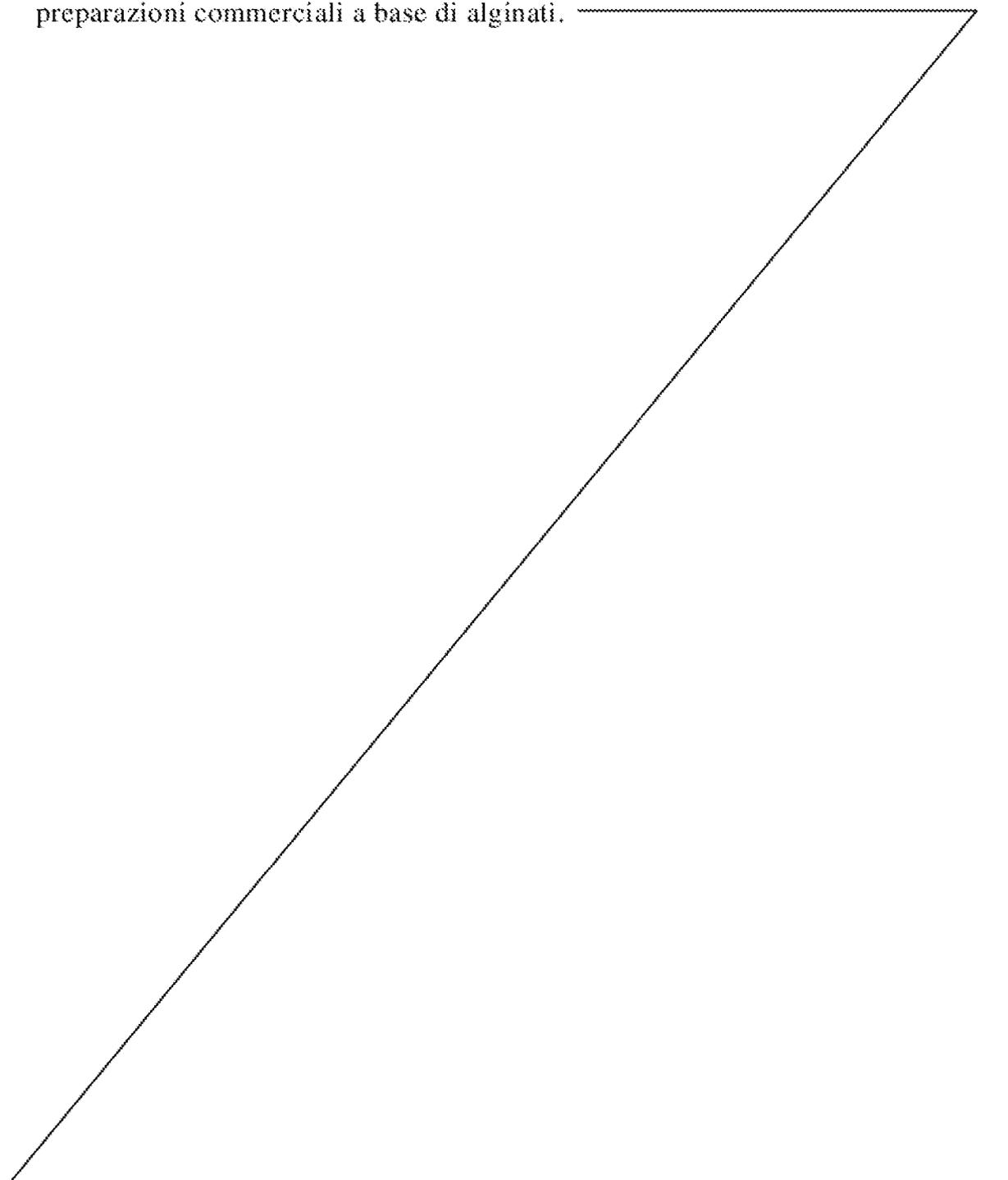


Tabella 1

Prodotto	Dose: ml o cpr	Acido alginico o Na alginato (mg/dose)	NaHCO ₃ (mg/dose)	Altri componenti antiacidi	
				Componente	(mg/dose)
Gaviscon Liquid (UK)	10- 20 mL	500- 1000	267- 534	CaCO ₃	160- 320
Gaviscon Double Action (UK)	10 mL	500	213	CaCO ₃	325
Gaviscon Advance (It) Gaviscon Advance (UK)	10 mL	1000	200 (KHCO ₃)	CaCO ₃	200
Gaviscon Compresse (It) Gaviscon Tablets (UK)	1- 2 cpr	500- 1000	170- 340	AlOH ₃ gel + Mg silicate	100-200 25-50
Gaviscon Antacid (USA)	2 cpr.	n.d.	n.d.	AlOH ₃ gel + Mg silicate	160 40
Gaviscon Extra Strength (USA)	2 cpr	n.d.	n.d.	AlOH ₃ / MgCO ₃ gel + MgCO ₃	250 160
Gaviscon Liquid (USA)	15 mL	n.d.	n.d.	AlOH ₃ / MgCO ₃ gel + MgCO ₃	160 392
Gaviscon Extra Strength Liquid (USA)	10 mL	n.d.	n.d.	AlOH ₃ / MgCO ₃ gel + MgCO ₃	819 409
Gaviscon Tablets (Fr)	1 cpr	520	88.5	AlOH ₃ gel + Mg silicate	167 30
Gaviscon Suspension (Fr)	10 mL	500	267	CaCO ₃ + NaOH	
Gaviscon Infant (UK)	1 sachet	225 Na alg + 67.5 Mg alg.	-	-	-
Gastrocote (UK)	2 cpr.	400	140	AlOH ₃ gel + Mg silicate	160 80
Algicon Liquid (UK)	10 mL	500	100	AlOH ₃ / MgCO ₃ gel + MgCO ₃	280 350
Rennie Alginat (NL)	10 mL	300	-	CaCO ₃ MgCO ₃	1200 140

Descrizione dell'invenzione

Nella zona anatomica interessata dalla GERD esiste una estrema variabilità delle condizioni dinamiche e si hanno notevoli irregolarità nella costituzione, nel disfacimento e nel riassorbimento fisiologico dello strato barriera denominato "raft". Quest'ultimo può infatti risultare poco adesivo ed elastico per aderire costantemente al tessuto di esofago e cardias, in tutti i loro movimenti e variazioni di conformazione.

In alcuni casi si sono riscontrati problemi nell'uso pediatrico, in particolare è stata riportata la formazione di un ammasso indigeribile e persistente in loco chiamato "Gaviscoma" di difficile rimozione.

Nondimeno, sempre più frequentemente è richiesto un rapido sollievo a bruciore e sintomi del reflusso, prima che il raft formato dagli alginati agisca sui tessuti esofagei, pertanto sarebbe molto utile un componente che ricopra l'esofago e lo stomaco con proprietà di barriera caratterizzato da una rapida bioadesione al tessuto.

La composizione secondo la presente invenzione risolve i problemi e raggiunge gli scopi di cui sopra, essendo caratterizzata da rapidità di azione a livello gastroesofageo, fornendo immediato sollievo ai tessuti infiammati e prevenendo la formazione del deposito insolubile che causa ostruzione (gaviscoma).

Oggetto della presente invenzione è pertanto una composizione orale per uso nel trattamento della malattia da reflusso gastroesofageo, comprendente i seguenti ingredienti:

- estratto di tamarindo
- acido alginico o suo sale

- carbomer
- carbonato e/o bicarbonato di un metallo alcalino o alcalino terroso fisiologicamente compatibile.

L'estratto di tamarindo è un estratto secco di semi della pianta. La pianta del tamarindo, nome scientifico *Tamarindus indica*, è un sempreverde appartenente alla famiglia delle Leguminose che può raggiungere i 30 metri di altezza; i suoi frutti sono costituiti da baccelli che possono contenere al loro interno dai 4 ai 12 semi. Il tamarindo è composto per il 31% da acqua, 57% da zuccheri, 5% da fibre alimentari, ceneri, proteine e grassi; i minerali presenti nel tamarindo sono il potassio, presente in grande quantità, fosforo, magnesio, sodio, calcio e selenio.

Queste le vitamine: vitamina A, B1, B2, B3, B5, B6, vitamina C, K, e J. In percentuale piccolissima troviamo anche la vitamina E.

Tra gli aminoacidi quelli presenti sono la lisina, triptofano e metionina. Il gusto acido del tamarindo è dovuto all'acido tartarico presente in percentuale del 12% circa.

Le proprietà del tamarindo sono in parte dovute ai polisaccaridi alimentari, emicellulose quali lo xiloglucano, pectine, mucillagini, che proteggono la superficie dell'esofago irritato immediatamente al primo passaggio. Gli xiloglucani estratti dai semi di tamarindo sono stati descritti come un potenziatore della viscosità con attività mucomimetica, mucoadesiva, e bioadesiva (Saettone, 1997; Gupta, 2010, Semenzato, 2015).

L'estratto di tamarindo ricco di polisaccaridi è ricavato per essiccamento dei semi della pianta. Preferibilmente, detto estratto ha un contenuto di polisaccaridi maggiore del 30% in peso.

La composizione secondo l'invenzione contiene preferibilmente da 25 mg a 400 mg di detto estratto di tamarindo per unità di dosaggio.

L'acido alginico o suo sale impiegato nella composizione secondo l'invenzione ha generalmente una viscosità minore di 2000 mPas al 10 % in acqua a 20°C-Brookfield Lv, 20 rpm. La composizione contiene preferibilmente da 25 mg a 900 mg di acido alginico o suo sale, più preferibilmente da 50 mg a 500 mg.

Commercialmente noto come Carbomer e Carbopol, il carbossivinilpolimero (o carbossipolimetilene) è un polimero ad elevato PM sintetico ottenuto per polimerizzazione dell'acido acrilico, in presenza di 0,75 - 2% p/p di allilsaccarosio allo scopo di ottenere una struttura reticolata.

Il contenuto in gruppi carbossilici (-COOH) deve essere compreso fra 56,0 e 68,0%. La dispersione acquosa della polvere richiede la neutralizzazione con NaOH o basi organiche per ottenere geli a diversa viscosità. La viscosità è influenzata dal pH. Di solito il pH di utilizzo è compreso tra i valori di 5 e 9. Origina soluzioni viscosose o geli e la viscosità è funzione del pH e della base neutralizzante.

Il carbomer utilizzato secondo la presente invenzione preferibilmente presenta una viscosità compresa tra 25000 e 40000 cP a 0,5 % in acqua a pH 7,3-7,8 a 25°C-Brookfield RTV spindle nr. 6,20 rpm.

La composizione dell'invenzione contiene preferibilmente da 10 a 100 mg di carbomer per unità di dosaggio.

La composizione dell'invenzione contiene inoltre carbonato e/o bicarbonato di un metallo alcalino o alcalino terroso fisiologicamente compatibile, preferibilmente scelto tra carbonato di calcio e bicarbonato di

potassio. La composizione contiene preferibilmente da 10 mg a 500 mg di detto carbonato e/o bicarbonato di metallo alcalino o alcalino terroso fisiologicamente compatibile.

Quali ulteriori ingredienti attivi, la composizione può contenere estratto di malva, di camomilla, di zenzero, in forma di oli essenziali, come estratti secchi o fluidi o come droghe vegetali.

La composizione dell'invenzione comprende inoltre eccipienti quali diluenti, aromi e dolcificanti.

Detta composizione può essere in forma solida o liquida, preferibilmente in forma di compressa o di sospensione acquosa.

Le composizioni solide generano una sospensione liquida con la saliva dopo masticazione e sono preferibilmente in forma di granulato solubile in acqua o orosolubile o compressa masticabile. Le composizioni liquide sono preferibilmente in forma di flacone multidose o monodose o busta.

Una forte adesione sulle mucose è stata osservata in modelli animali, paragonabile a quella esercitata da gomma di Guar e superiore a quella di altri polimeri muco-adesivi neutri idrosolubili, come arabinogalattani, acido ialuronico, idrossipropilcellulosa, idrossietilcellulosa e alcool polivinilico (Nakamura, 1996; Di Colo, 2009; Uccello-Barretta, 2011 e 2013).

Quindi l'associazione di ingredienti fornisce protezione immediata al tessuto esofageo attraverso un efficace effetto barriera.

Durante le prove di caratterizzazione del prodotto si è osservato sorprendentemente un aumento della fluidità, plasticità e della velocità di dissoluzione del "raft" formato dagli alginati e dai sali basici di carbonato. Pertanto, oltre a fornire un più rapido effetto protettivo su esofago e stomaco

grazie alla presenza dei polisaccaridi del tamarindo, la composizione dell'invenzione consente una migliore adesione del raft alginico nelle diverse condizioni dinamiche di esofago e cardias e un più veloce riassorbimento della formazione alginica, prevenendo il deposito di ammassi indesiderati all'ingresso dello stomaco.

La composizione dell'invenzione presenta dunque i seguenti vantaggi: (1) azione protettiva sulla mucosa dello stomaco e dell'esofago; (2) prevenzione della formazione di schiume acide nello stomaco; (3) attività efficace contro gastrite e ulcera.

Esempio 1 - compressa masticabile

Esempio 1A:

COMPONENTE	(mg) Per unità posologica	g /100 g
Primo gruppo		
Calcio carbonato gran. Pharmagnesia CC Type 140	25,0	2,27
Potassio bicarbonato (polvere fine)	100,0	9,09
Tamarindo indica Xiloglucano	50,0	4,55
Sodio alginato	200,0	18,19
Cellulosa microcristallina 102	240,0	21,82
Mannitolo 200 SD	126,4	11,49
Mannitolo CD 400	145,0	13,18
Magnesio stearato	10,0	0,91
Maltodestrine IT19	171,2	15,56
Secondo gruppo		
Aroma menta	15,0	1,36
sucralosio	3,0	0,27
levilite	10,0	0,91
Maltodestrine IT19	4,4	0,40

Caratteristiche compressa:

Rotonda, piatta, Diametro 16 mm

DUREZZA > 6 - 9 kN

FRIABILITA' < 3 %

Esempio 1B:

COMPONENTE	(mg) Per unità posologica	g /100 g
Primo gruppo		
Calcio carbonato	25,000	2,62
Tamarindo indica Xiloglucano	100,000	10,47
Sodio alginato	100,000	10,48
Cellulosa microcristallina 102	150,000	15,71
Mannitolo 200 SD	240,000	25,13
Maltodestrine	25,000	2,62
Secondo gruppo		
Aroma menta	15,0	1,36
Potassio bicarbonato (polvere fine)	100,0	9,09
Magnesio stearato	10,000	1,05
sucralosio	2,360	0,25
Maltodestrine	171,200	17,93
Aroma latte	10,000	1,05
Aroma anice	10,000	1,05
levilite	10,000	1,05

Caratteristiche compressa:

Diametro 14 mm

DUREZZA > 5 - 7 kN

FRIABILITA' < 3 %

Esempio 2 - Processo di preparazione

- a) Nel caso di polveri scorrevoli come nella composizione 1A (tempo di scorrimento in Apparecchiatura EP per la misura della “dynamic flowability” < 20 sec), usare un processo di miscelazione e compressione diretta. Miscelare i componenti riportati nel primo gruppo della seguente composizione in opportuno mescolatore polveri per 15 minuti a 3-10 rpm. Successivamente unire quelli del secondo gruppo e mescolare per altri 3 minuti. Sottoporre la miscela a

compressione mediante macchina compresse opportunamente attrezzata per generare compresse

- b) Nel caso di polveri non scorrevoli come nella composizione 1B, usare un processo di granulazione in opportuno impastatore mediante liquido (acqua) versata sugli eccipienti del primo gruppo ed essiccare in opportuno essiccatore fino ad umidità residua inferiore al 6%. Poi unire quelli del secondo gruppo e mescolare per altri 3 minuti. Sottoporre la miscela a compressione mediante macchina compresse opportunamente attrezzata per generare le compresse

Esempio 3 - formulazione liquida pronta all'uso

COMPONENTE	(mg) Per unità posologica	g/100g
Primo gruppo		
Acqua demineralizzata	3592,500	23,950%
Carbopol 974P	45,000	0,300%
Secondo gruppo		
Acqua demineralizzata	10500,000	70,000%
Calcio carbonato pesante	50,000	0,333%
sodio alginato	400,000	2,667%
Ginger zenzero nat.	2,400	0,016%
Ginger olio essenziale	2,100	0,014%
Aroma latte condensato	30,000	0,200%
Aroma anice	30,000	0,200%
Potassio bicarbonato	200,000	1,333%
Tamarindo e. secco	100,000	0,667%
Nipagina sodica	30,000	0,200%
Sucralosio	3,000	0,020%
Alcool etilico	15,000	0,100%
NaOH	qb	Qb
Specifiche sospensione		
Stickpack contenente 15 ml (equivalenti circa a 15000 mg) di sospensione		
Aspetto: liquido cremoso, dal color crema a color crema scuro		
pH: 8,20 +/- 0,2		
Densità: 1,024 +/- 0,05 g/mL		

Esempio 4 - Processo di preparazione

In un primo contenitore disperdere il carbomer in circa il 23% dell'acqua totale e mantenere sotto lenta agitazione (fase 1). In un secondo contenitore disperdere in acqua i componenti del secondo gruppo e mantenere sotto lenta agitazione per un'ora (fase 2).

Unire la fase 2 alla fase 1 e portare a pH tra 8 ed 8,4 con NaOH soluzione 1 molare (o al 30%) quanto basta.

Confezionare la sospensione così ottenuta su linea di confezionamento attrezzata per generare opportuni contenitori (flaconcini, stickpak) contenenti il prodotto.

Esempio 5 – Test di bioadesione

Il principale obiettivo di questa ricerca, condotta presso il Dipartimento di Scienze Farmaceutiche dell'Università di Catania, era quello di valutare, in una prima fase della sperimentazione, la mucoadesività in vitro del prodotto liquido (denominato Antireflusso-Zenzero Tamarindo PJ347-6) nei confronti delle cellule epiteliali del tratto gastrointestinale. Un secondo obiettivo, sviluppato nella seconda fase della sperimentazione, è stato quello di determinare la resistenza nel tempo dello strato mucoadesivo (formato per interazione del prodotto con le cellule mucosali) all'azione di una soluzione acida per HCl (pH 3.5), simulante il succo gastrico.

La valutazione della capacità mucoadesiva del prodotto Antireflusso-Zenzero Tamarindo (PJ347-6) è stata effettuata, mediante un test in vitro, utilizzando linee cellulari Caco-2.

Le cellule intestinali della linea Caco-2 sono state scelte come modello di cellule epiteliali, in quanto presentano caratteristiche morfologiche e

biochimiche tipiche dell'enterocita assorbente presente nel tratto gastrointestinale. Il legame della sostanza è stato valutato in funzione della percentuale di inibizione lectina-glicoproteina. La lectina è artificialmente legata alla biotina, la quale è in grado di legarsi alla streptavidina perossidasi che viene aggiunta alla sospensione cellulare. Dopo ripetuti lavaggi, viene aggiunta alla sospensione cellulare la o-fenildiamina (o-pd) in presenza di acqua ossigenata. Se nell'ambiente di reazione è presente la streptavidina perossidasi, l'o-pd viene ossidato con sviluppo di colore giallo. La reazione viene bloccata dopo circa un minuto con HCl 1M. L'intensità della colorazione, misurata con lettura allo spettrofotometro, è proporzionale alla quantità di legame della lectina con i gruppi glucosidici sulla membrana cellulare.

Nel caso delle cellule trattate preventivamente con un prodotto con capacità mucoadesive (incubazione a 30°C per 15 minuti, prima del trattamento con lectina), i siti per il legame della lectina vengono occupati dalla sostanza in esame, determinando una diminuzione dell'intensità della colorazione finale, in quanto meno streptavidina perossidasi risulterà legata alla lectina biotilinata.

I risultati vengono espressi in funzione della percentuale di legame della sostanza mucoadesiva. Le cellule controllo sono considerate come il 100% delle cellule colorate. Meno le cellule risulteranno colorate (percentuale riferita al controllo) maggiore sarà la quantità di sostanza mucoadesiva legata alla membrana cellulare.

A titolo di riferimento un buon bioadesivo raramente supera il 70% di risultato.

Ciascun esperimento, relativo ad un determinato intervallo di tempo di esposizione al flusso della soluzione acida, è stato condotto in triplicato.

I risultati ottenuti hanno dimostrato una buona mucoadesività del prodotto nei confronti delle cellule gastrointestinali Caco-2. Il grado di mucoadesività ottenuto per la soluzione del prodotto Antireflusso-Zenzero Tamarindo (PJ347-6) (diluita 1:2) è risultato del $69,6 \pm 3,0 \%$, significativamente differente da quello ottenuto con la diluizione 1:5 ($56,6 \pm 4,7 \%$, $p < 0,05$) (Tabella 2).

Tabella 2

Percentuale di mucoadesività del prodotto Tamarindo (PJ347-6) (diluito 1:2 e 1:5) nei confronti delle cellule gastrointestinali Caco-2.

Antireflusso-Zenzero Tamarindo (PJ347-6)	Diluizione 1:2	Diluizione 1:5
A	72,7	61,9
B	66,8	52,8
C	69,3	55,1
Media \pm S.D.	$69,6 \pm 3,0$	$56,6 \pm 4,7$

La seconda fase della sperimentazione si riferisce alla determinazione della resistenza dello strato mucoadesivo, formatosi per interazione tra i componenti polisaccaridici dei prodotti e le cellule mucosali.

I risultati ottenuti, nelle prove dinamiche, hanno evidenziato un'interessante capacità di questi polisaccaridi di rimanere bio-adesi alle mucose, assicurando una buona mucoadesività per la prima ora di contatto pur rimanendo apprezzabile anche dopo la seconda ora.

Infatti, dopo 0,5 h, 1h e 2 h le percentuali di mucoadesione erano del $53,9 \pm 4,0 \%$ (0,5h), $46,0 \pm 2,5 \%$ (1h); $37,0 \pm 2,2 \%$ (2h) (Tab. 3)

Tabella 3

Resistenza dello strato mucoso adesivo ottenuto con il prodotto Antireflusso-Zenzero Tamarindo (PJ347-6) diluito 1:5 a differenti tempi 0,5 h 1 h e 2 h nei confronti del succo gastrointestinale simulato (sol. HCl pH 3.5).

Antireflusso-Zenzero Tamarindo (PJ347-6)	0 ore	0.5 ore	1 ora	2 ore
A	61,9	58,3	47,1	37,8
B	52,8	50,7	43,2	34,5
C	55,1	52,6	47,8	38,6
Media ± S.D.	56,6 ± 4,7	53,9 ± 4,0	46,0 ± 2,5	37,0 ± 2,2

Esempio 6 - test di Rafting con e senza estratto di Tamarindo.

Una semplice metodica in vitro permette di rilevare la formazione di Raft ed è descritta nell'articolo di d C. Scarpignato e V. Savarino dell'edizione di Therapy perspectives ANNO XIV, n.1, Marzo 2011, Anno XIV, N. 1, marzo 2011.

1. Una beuta a collo stretto tarata a 100 ml viene riempita con una soluzione 0,1 N di Acido Cloridrico

2. Si aggiungono da uno stick pack 10 grammi di prodotto "Antireflusso-"

3. Il prodotto si deposita inizialmente sul fondo formando un gel. Successivamente, lo sviluppo di CO₂ determina il galleggiamento del materiale che contemporaneamente si costituisce a gel e raggiunge il collo della beuta formando un tappo viscoso che prima di forarsi non permette la fuoriuscita del contenuto per un certo tempo

La misura della efficacia di questo gel viene effettuata capovolgendo la beuta e misurando il tempo necessario alla foratura del gel e alla fuoriuscita del liquido.

Il pericolo di residui quali le formazioni così nominate “Gaviscomi” viene valutato dalla permanenza dopo svuotamento di gel aggrumato rimasto in beuta.

I seguenti dati comparativi riguardano la composizione dell’invenzione (alginato, calcio carbonato, carbopol, estratto di tamarindo), e sono stati determinati dopo capovolgimento in beuta con Acido cloridrico 0,1 N. In confronto viene valutato anche Gaviscon advance, che non contiene carbopol né tamarindo.

Prodotto	Tempo di creazione RAFT (Sec)			TEMPO DI ROTTURA RAFT (Sec)			PRESENZA RESIDUO IN BEUTA A FINE SVUOTAMENTO			Omogeneità Aspetto raft
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
GAVISCON ADVANCE ®	90	85	120	1	1	1	SI	SI	SI	Disomogeneo con grossi grumi
Formula Esempio 3 senza Tamarindo	35	40	37	0.5	1	1	NO	NO	NO	Filamentoso omogeneo
Formula Esempio 3 con Tamarindo	5	4	5	3	3	5	NO	NO	NO	

I risultati mostrano una plasticità maggiore in presenza di Tamarindo e Carbopol e una assenza di residui grumosi dopo svuotamento della beuta.

RIVENDICAZIONI

1. Composizione orale per uso nel trattamento della malattia da reflusso gastroesofageo, comprendente i seguenti ingredienti:

- estratto di tamarindo
- acido alginico o suo sale
- carbomer
- carbonato e/o bicarbonato di un metallo alcalino o alcalino

terroso fisiologicamente compatibile.

2. Composizione secondo la rivendicazione 1, in cui l'estratto di tamarindo è un estratto secco di semi della pianta.

3. Composizione secondo le rivendicazioni 1-2, in cui detto estratto di tamarindo ha un contenuto di polisaccaridi maggiore del 30% in peso.

4. Composizione secondo le rivendicazioni 1-3, contenente da 25 mg a 400 mg per unità di dosaggio di detto estratto di tamarindo.

5. Composizione secondo le rivendicazioni 1 e 5, contenente da 25 mg a 900 mg per unità di dosaggio di acido alginico o un suo sale, preferibilmente da 50 mg a 500 mg.

6. Composizione secondo la rivendicazione 1, contenente da 10 a 100 mg di carbomer.

7. Composizione secondo la rivendicazione 1, contenente carbonato di calcio e/o bicarbonato di potassio.

8. Composizione secondo la rivendicazione 1, contenente da 10 mg a 500 mg per unità di dosaggio di detto carbonato e/o bicarbonato di metallo alcalino o alcalino terroso fisiologicamente compatibile.

9. Composizione secondo le rivendicazioni precedenti, comprendente, quali

ulteriori ingredienti attivi, estratto di malva, estratto di camomilla o estratto di zenzero.

10. Composizione secondo le rivendicazioni precedenti, in forma solida o liquida.

11. Composizione secondo la rivendicazione 10, in forma di compressa o di sospensione acquosa.

Milano, 22 dicembre 2015