MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	**102000900881664**
Data Deposito	**13/10/2000**
Data Pubblicazione	**13/04/2002**

Priorità	2000-36178
Nazione Priorità	KR
Data Deposito Priorità	

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

MICROPARTICELLA A RILASCIO PROLUNGATO E METODO PER LA SUA PREPARAZIONE

D E S C R I Z I O N E

del brevetto per Invenzione Industriale

di DONG KOOK PHARMACEUTICAL CO., LTD., di nazionalità coreana,

con sede a SEOUL 135-280 (COREA DEL SUD), 997-8, TAECHI-DONG, KANGNAM-KU

Inventori: PARK Jin Kyu, PARK Mark Soon, KIM Dong Seon, LIM Il Ho, JEE Ung Kil,

MYUNG Pyung Keun, KIM Sang Beom, JUNG Goo Young

TO 2000A 000963

SFONDO DELL'INVENZIONE

1. Campo dell'invenzione

L'invenzione si riferisce ad una preparazione a rilascio prolungato che libera una sostanza fisiologicamente attiva per lunghi periodi di tempo.

2. Descrizione della tecnica precedente

Per preparare sistemi di somministrazione di farmaco del tipo a rilascio prolungato (DDS), si adottano normalmente vari metodi, compresi coacervazione, separazione di fase in emulsione, incapsulamento mediante liofilizzazione e evaporazione del solvente in fase organica o fase acquosa. Di questi, l'evaporazione del solvente in fase acquosa è quello più largamente usato, e viene per lo più suddiviso in due tecniche: doppio emulsionamento W/O/W (acqua/olio/acqua) e emulsionamento semplice O/W (olio/acqua).

La tecnica acqua/olio/acqua viene normalmente usata per l'incapsulamento di farmaci idrosolubili

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 436/BM

come peptidi o proteine. In questa tecnica, si discioglie un farmaco idrosolubile in acqua e questo strato acquoso viene disperso in uno strato organico contenente un polimero biodegradabile, in modo da formare una emulsione primaria (acqua in olio). Questa emulsione primaria viene quindi dispersa in acqua. La tecnica olio/acqua, che viene normalmente adottata per incapsulare farmaci liposolubili, può essere realizzata disciogliendo un farmaco ed un eccipiente polimerico biodegradabile in un solvente organico oppure una miscela di solventi inorganici e disperdendo la soluzione in una fase acquosa. In ambedue i casi, la solubilità del polimero diminuisce con l'allontanamento del solvente organico per estrazione o evaporazione durante la dispersione di una fase oleosa del polimero in una fase acquosa. Come risultato il polimero viene solidificato formando microparticelle. Generalmente, rispetto a quelle ottenute con la tecnica olio/acqua, le microparticelle ottenute con la tecnica acqua/olio/acqua sono di struttura più porosa con area superficiale maggiore, per cui il loro rilascio iniziale di farmaci è elevato.

Il periodo di tempo di rilascio di tali microparticelle a rilascio prolungato viene determinato

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n° 436/BM

per lo più dalle proprietà fisiche e chimiche dei polimeri, composizioni di solventi e tipo e concentrazioni di emulsionanti. Di questi fattori determinanti, i più importanti sono le proprietà fisiche e chimiche dei polimeri, compresa composizione chimica, pesi molecolari e idrofilicità. Per esempio, il poli (lattide-co-glicolide) (PLGA), un polimero formato da lattide e glicolide con un rapporto molare differente tra di loro, viene degradato a bassa velocità man mano che aumenta la quantità molare o il peso molecolare del lattide. In questo caso, i polimeri che hanno un contenuto di lattide più elevato o con peso molecolare più alto, comportano tempi di rilascio più lunghi. Tuttavia, quando il polimero viene degradato per un periodo di tempo lungo, le microparticelle liberano con difficoltà il farmaco incapsulato in alcuni punti della fase iniziale o intermedia. Quindi, l'uso di un polimero nella preparazione di microparticelle a rilascio prolungato, in grado di rilasciare continuamente i farmaci per i periodi di tempo desiderati (per esempio, 1, 2, 3, 6 mesi o più) richiede sforzo e tempo lungo. Tenendo conto di questo problema, le ricerche sono state dirette all'impiego di combinazioni di polimeri rapidamente e lentamente degrada-

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

bili nell'incapsulamento dei farmaci. Dalla quantità di farmaco rilasciato dalle microparticelle prodotte con i polimeri combinati, tuttavia, la velocità di rilascio del farmaco dalle microparticelle non può essere determinato con precisione. Vista la coesistenza di almeno due polimeri differenti in una microparticella, il polimero degradabile più lentamente tende a venire degradato a velocità maggiore per effetto dei prodotti di degradazione del polimero degradabile più rapidamente di quanto potrebbe accadere se fosse solo. In pratica, la velocità di rilascio dei farmaci nel corpo è pure influenzata dal polimero degradabile più rapidamente, ed è quindi differente dal valore medio delle velocità di rilascio dei farmaci incapsulati nei singoli polimeri.

Per aggirare questo problema, gli stessi ingredienti attivi vengono incapsulati in almeno due singoli polimeri che hanno velocità di degradazione differente l'uno dall'altro e le microcapsule vengono combinate in rapporti opportuni per ottenere una formulazione di dosaggio in microcapsule che può rilasciare gli ingredienti attivi per un periodo di tempo desiderato, come descritto nel brevetto U.S. n. 4.897.268. Tuttavia, questa tecnica è impe-

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

gnativa per il fatto che sono necessari due o più tipi di microcapsule per una forma di dosaggio di farmaco e quindi è economicamente sfavorevole.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

Uno scopo della presente invenzione consiste nel fornire un metodo per la preparazione di una formulazione per rilascio prolungato di farmaco costituito da varie microparticelle che mantengono le loro proprietà di rilascio del farmaco nella loro integrità, per cui il periodo di tempo di rilascio della formulazione può essere facile da prevedere e controllato variando le composizioni ed i pesi molecolari dei polimeri, composizione e concentrazioni dei solventi e tipi e quantità di additivi.

Un altro scopo della presente invenzione consiste nel fornire una formulazione a rilascio di farmaco prolungato che può liberare farmaci che interessano per un periodo di tempo desiderato.

Secondo la presente invenzione, si può preparare una formulazione per il rilascio di farmaco prolungato usando un processo di multiemulsione, che comprende le fasi di: disciogliere o disperdere un farmaco in ciascuno di almeno due oli per ottenere almeno due fasi oleose o emulsioni primarie, ciascuna contenente un polimero biodegradabile; di-

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

sperdere le almeno due fasi oleose primarie o emulsioni in una fase acquosa, contemporaneamente oppure in successione e allontanare i solventi organici dalla soluzione di farmaco disperso per produrre microparticelle.

Nella presente invenzione, si possono incapsulare analoghi di LHRH in un eccipiente costituito da un poliestere alifatico biodegradabile per venire rilasciati in continuazione in vivo per un periodo di tempo desiderato.

BREVE DESCRIZIONE DELL'INVENZIONE

I precedenti ed altri scopi, caratteristiche e altri vantaggi della presente invenzione verranno compresi più chiaramente dalla seguente descrizione dettagliata fatta unitamente ai disegni allegati, in cui:

La figura 1a è una fotografia ottica di microparticelle preparate secondo l'esempio I.

La figura 1b è una fotografia ottica di microparticelle preparate secondo l'esempio comparativo Ia della presente invenzione.

La figura 1c è una fotografia ottica di microparticelle preparate secondo l'esempio comparativo Ib.

La figura 1d è una fotografia ottica di micro-

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

particelle preparate secondo l'esempio comparativo Ic.

La figura 2a è una fotografia al microscopio elettronico a scansione di microparticelle preparate secondo l'esempio IIA della presente invenzione, ingrandite 100 volte.

La figura 2b è una fotografia al microscopio elettronico a scansione di microparticelle preparate secondo l'esempio IIA della presente invenzione, ingrandite 800 volte.

La figura 3 è un diagramma che mostra i risultati della prova di rilascio in vitro di varie microparticelle, comprese Leuplin (-□-) e microparticelle preparate nell'esempio comparativo IIA (-Δ-), nell'esempio comparativo IIB (-∇-), nell'esempio IIA (-O-), e nell'esempio IIB (-◊-).

La figura 4 è un grafico che mostra i risultati della prova di rilascio in vivo di varie microparticelle, comprese Leuplin (-□-) e microparticelle preparate nell'esempio IIA (-O-) e nell'esempio IIB (-Δ-).

La figura 5 è un grafico che mostra gli effetti di repressione del testosterone in vivo di un controllo (-O-), Leuplin (-□-) e microparticelle preparate nell'esempio IIA (-Δ-) e nell'esempio IIB

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 425/BM

(-V-).

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

La presente invenzione prevede la dispersione sincrona o successiva di varie fasi oleose o emulsioni primarie in una fase acquosa per preparare una miscela di microparticelle che mantengono le singole proprietà di rilascio intatte e quindi consentono la preparazione di un sistema di somministrazione di farmaco capace di liberare farmaci in continuazione per un periodo di tempo prolungato. Rispetto ai metodi convenzionali, la presente invenzione presenta il vantaggio di controllare fattori relativi al periodo di tempo di rilascio con facilità, specialmente la velocità di rilascio iniziale, senza alterare il periodo di tempo di rilascio totale.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

Nella presente invenzione, si introduce un procedimento per controllare le composizioni ed i pesi molecolari di polimeri adatti, le composizioni e le concentrazioni di solventi ed additivi ad una varietà di livelli, ottenendo la preparazione di microparticelle a rilascio prolungato che è riassunta nelle seguenti tre fasi:

Prima fase: si preparano almeno due fasi oleose (olio) o emulsioni primarie (acqua in olio) dif-

ferenti l'una dall'altra in almeno due dei tipi, concentrazioni e composizioni di ingredienti attivi e polimeri biodegradabili.

Seconda fase: gli oli primari o le emulsioni di acqua in olio vengono disperse in una fase acquosa (acqua).

Terza fase: il solvente inorganico viene allontanato dalla dispersione per ottenere microparticelle.

Per quanto si riferisce alla dispersione della seconda fase, le due o più fasi oleose primarie o emulsioni vengono, in successione, disperse in una fase acquosa. Alternativamente, una delle fasi oleose primarie o emulsioni viene dapprima dispersa in una fase acquosa che viene lasciata esposta ad un cambiamento dei suoi fattori fisici o chimici, seguita da dispersione dell'altra fase (altre fasi) oleosa nella fase acquosa. L'espressione "fattori fisici o chimici", come usato nel presente documento, indica velocità di miscelazione, quantità di fase acquosa e concentrazioni degli emulsionanti o additivi contenuti nella fase acquosa.

Esempi concreti, ma non limitativi, di polimeri biodegradabili adatti all'impiego nella presente invenzione comprendono acetato di cellulosa, aceta-

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

to propionato di cellulosa, butirrato di cellulosa, propionato di cellulosa, valerato di cellulosa, polimero cumarone-indene, dibutilammino idrossipropiletere, etilcellulosa, copolimero etilene-acetato di vinile, gliceroldistearato, idrossipropilmetilcellulosa ftalato, copolimero 2-metil-5-vinilpiridinmetacrilato-acido metacrilico, poliamminoacidi, polianidridi, policaprolattone, policarbonato, polibutadiene, poliesteri, poliesteri alifatici, acido poliidrossibutirrico, polimetilmetacrilato, esteri dell'acido polimetacrilico, esteri poliolici, polipropilene, polisaccaridi come acido alginico, chitina, chitosan, condroitina, destrina, destrano, acido ialuronico, eparina, cheratan solfato, amido e così via, polistirene, polivinilacetale dietilammino acetato, polivinilacetato, alcool polivinilico, polivinilbutirrale, polivinilformale, proteine come albumina, caseina, collagene, fibrina, fibrinogeno, gelatina, emoglobina, transferrina, zeina e così via, copolimero cloruro di vinile-propilene-acetato di vinile, copolimero cloruro di vinile-acetato di vinile, cere come sego bovino, cera di balena, cera d'api, cera paraffinica, cera di ricino e così via, e acidi grassi superiori come acido miristico, acido palmitico, acido stearico,

CERBARO Elena
(Iscrizione Albo nr 425/BM)

acido beenico e così via, con preferenza per i poliesteri alifatici. Più preferibili sono i polilattidi, poliglicolidi e loro copolimeri (PLGA).

Verrà fornita una descrizione più dettagliata della presente invenzione assumendo come esempio PLGA.

Poiché nella degradazione finale in vivo vengono trasformati in acido lattico ed acido glicolico, il PLGA viene riconosciuto come biocompatibile e innocuo per il corpo. Con questo vantaggio il PLGA, il cui impiego per l'uomo è stato autorizzato dalla FDA degli Stati Uniti d'America, viene utilizzato per sistemi di somministrazione prolungata di farmaci per analoghi dell'ormone di rilascio dell'ormone luteinizzante (LHRH) usato nel trattamento del cancro della prostata e per l'ormone della crescita umana che viene somministrato a pazienti affetti da nanismo infantile. Esistenti in varie forme a seconda delle proprietà fisiche quali le proporzioni tra i monomeri costituenti, che sono l'acido lattico e l'acido glicolico, il peso molecolare e l'idrofilicità, PLGA viene degradato in vivo per un periodo da 2 settimane a vari mesi.

Nella prima fase del metodo secondo la presente invenzione, si preparano almeno due fasi oleose

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

o emulsioni primarie. Queste fasi oleose o emulsioni presentano proprietà fisiche e chimiche differenti da quelle dei PLGA. Per esempio, una delle fasi oleose o emulsioni primarie può essere preparata disciogliendo in un olio un farmaco ed un PLGA che viene degradato in un periodo di tempo relativamente breve in vivo. Tale PLGA rapidamente degradabile può venire preparato da, per esempio, una miscela 50:50 di acido lattico e acido glicolico. Un PLGA altamente idrofilo, per esempio PLGA contenente residui carbossilici terminali come RG502H e RG503H (Boehringer Ingelheim), e PLGA a basso peso molecolare, presentano elevate velocità di degradazione. D'altro canto, per la preparazione di un'altra delle fasi o emulsioni primarie, si possono impiegare lo stesso farmaco ed un PLGA a degradazione relativamente lenta. Un PLGA a degradazione relativamente lenta può essere preparato, per esempio, da una miscela 75:25 di acido lattico e acido glicolico. Un PLGA a bassa idrofilicità, per esempio PLGA i cui gruppi carbossilici terminali sono sostituiti mediante dodecile, come RG502 e RG503 (Boehringer Ingelheim), e PLGA ad alto peso molecolare mostrano basse velocità di degradazione. Quando si impiega un farmaco idrosolubile, questo

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

viene disciolto in una fase acquosa e quindi emulsionato nelle fasi oleose che contengono i rispettivi polimeri, producendo in tal modo almeno due emulsioni primarie.

Inoltre, le fasi o emulsioni oleose possono essere differenti come contenuto di farmaci mentre si può impiegare lo stesso polimero. In dettaglio, quando come ingrediente attivo si usa LHRH, si possono ottenere due fasi oleose primarie differenti disciogliendo un antagonista di LHRH in una fase oleosa ed un analogo agonista di LHRH in un'altra fase oleosa primaria.

Inoltre, si possono preparare almeno due fasi oleose o emulsioni primarie fisicamente o chimicamente differenti usando tipi non diversi di farmaci o polimeri, ma un farmaco e un polimero. In questo caso, i parametri che determinano la differenza delle proprietà fisiche e/oppure chimiche tra le due o più fasi oleose o emulsioni primarie comprendono il rapporto ponderale tra farmaco e polimero, il rapporto ponderale tra farmaco o polimero e solvente organico, il rapporto ponderale tra solventi organici (se si usano due o più solventi organici), ed il rapporto ponderale tra solvente organico e solvente acquoso (se il farmaco è idrosolubile,

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

cioè quando si usa acqua/olio/acqua. Le microparticelle preparate con parametri differenti sono diverse l'una dall'altra come struttura e morfologia nonché come velocità di rilascio del farmaco. Per esempio, se il rapporto ponderale tra polimero e solvente organico viene aumentato, la fase oleosa o emulsione primaria ha una viscosità maggiore e quindi presenta una migliorata efficienza di incapsulamento, con conseguente produzione di microparticelle più grandi. Come altro esempio, nel caso in cui il farmaco sia idrosolubile, la velocità di rilascio tende ad aumentare con l'aumento del contenuto di farmaco. D'altro canto, la velocità di rilascio di un farmaco liposolubile ha tendenza a diminuire quando la quantità di farmaco contenuta aumenta.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

Proprietà chimiche e fisiche differenti possono anche essere dovute all'uso di una miscela di solventi diversi. Poiché solventi diversi mostrano differenza di solubilità in acqua come pure differenza di punto di ebollizione dall'uno all'altro, i solventi vengono allontanati o evaporati a velocità diverse dall'emulsione dispersa nella fase acquosa secondaria. Per conseguenza, le microparticelle mostrano proprietà differenti tali da influenzare le

loro velocità di rilascio del farmaco.

Nella seconda fase del procedimento secondo la presente invenzione, le due o più fasi o emulsioni oleose primarie preparate in precedenza vengono disperse in una fase acquosa. La dispersione delle fasi o emulsioni oleose primarie può essere eseguita in modo sincrono o in successione. Nell'ultimo caso, la fase oleosa secondaria può venire dispersa poco dopo la dispersione della prima fase o emulsione oleosa primaria nella fase acquosa. Queste tecniche di dispersione debbono impiegare una quantità sufficiente di fase acquosa per estrarre o evaporare il solvente organico presente nella fase o emulsione oleosa primaria. Inoltre, la successiva dispersione delle fasi o emulsioni oleose primarie può essere ottenuta introducendo la fase di cambiamento dei fattori fisici e chimici della fase acquosa tra le fasi di dispersione della prima fase o emulsione oleosa primaria e della seconda fase o emulsione oleosa primaria.

Come si è detto prima, i fattori chimici e fisici nella fase acquosa comprendono velocità di miscelazione, quantità di fase acquosa e concentrazioni degli emulsionanti o additivi contenuti nella fase acquosa. Nel complesso, aumentando la velocità

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

di miscelazione si riduce la dimensione delle micelle emulsionate, con conseguente diminuzione della dimensione delle microparticelle. Una grande quantità di fase acquosa permette l'estrazione dei solventi organici ad una velocità maggiore dall'emulsione, con conseguente elevata velocità di solidificazione del polimero biodegradabile. Per conseguenza si formano microparticelle di grandi dimensioni. La temperatura della fase acquosa deve pure essere tenuta in considerazione poiché ha una influenza sulla velocità di evaporazione dei solventi organici. Con l'aumento della temperatura, l'evaporazione diventa più rapida. Come risultato, la velocità di solidificazione del polimero biodegradabile e la dimensione delle microparticelle determina la velocità di rilascio del farmaco. Dopo la dispersione della prima fase oleosa primaria o emulsione in una fase acquosa, l'aumento della quantità o della temperatura della fase acquosa porta all'estrazione di una quantità sufficiente del solvente organico contenuto nella seconda fase oleosa o emulsione. Nella dispersione di almeno due fasi oleose o emulsioni primarie in una fase acquosa si deve quindi tenere conto del tipo e della quantità di solvente organico presente in ciascuna

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 436/BM

delle fasi oleose o emulsioni primarie nonché della quantità e temperatura della fase acquosa.

A titolo di esempio, non limitativo, farmaci adatti all'uso nella presente invenzione comprendono peptidi fisiologicamente attivi e/oppure proteine, agenti antitumorali, antibiotici, prodotti antifebbrili, anodini, agenti antiinfiammatori, espettoranti, antiirritanti, rilassanti muscolari, prodotti antiepilettici, agenti antiulcera, agenti antiipocondriaci, agenti antiallergici, cardiocinetici, agenti antiaritmici, agenti vasodilatatori, catartici ipotensivi, agenti antidiabetici, agenti antiiperlipemici, anticoagulanti, agenti emolitici, agenti antitubercolari, ormoni, antagonisti anestetici, soppressori dell'osteoclasia, promotori dell'osteogenesi, soppressori dell'angiogenesi e loro miscele.

Costituiti da almeno due amminoacidi, i peptidi e/oppure le proteine fisiologicamente attive hanno un peso molecolare che varia da 200 a 100.000 e possono essere esemplificati dall'ormone della crescita umana, dall'ormone di rilascio dell'ormone della crescita, dal peptide di rilascio dell'ormone della crescita, interferone, fattori di stimolazione della colonia, interleuchina, fattori di attiva-

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

zione dei macrofagi, peptidi macrofagi, fattori della cellula B, fattori della cellula T, proteina A, repressori di allergia, glicoproteine di necrosi cellulare, immunotossine, linfotossine, fattori di necrosi tumorale, fattori di repressione tumorale, fattori della crescita di metastasi, antitripsina α-1, albumina e suoi frammenti di polipeptide, apolipoproteina-E, eritropoietina, fattore VII, fattore VIII, fattore IX, fattori di attivazione del plasminogeno, urochinasi, streptochinasi, proteina C, proteine reattive con C, soppressori della renina, soppressori della collagenasi, superossido dismutasi, fattori della crescita derivati da piastrine, fattori della crescita epidermica, fattori della crescita osteogenica, proteine di promozione ostoegenica, calcitonina, insulina, atriopeptina, fattori di induzione della cartilagine, fattori di attivazione del tessuto connettivo, ormone follicolo stimolante, ormone luteinizzante, ormone di rilascio dell'ormone luteinizzante, fattori della crescita nervosa, ormone paratiroideo, relaxina, secretina, somatomedina, fattori della crescita insulino simili, ormone adrenocorticotropico, glucagone, colecistochinina, polipeptidi pancreatici, ormone di rilascio della gastrina, fattori di rila-

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

scio della corticotropina, ormoni di stimolazione della tiroide, anticorpi mono- e policlonali contro vari virus, batteri e tossine, vari vaccini derivati da virus e loro miscele.

Esempi concreti ma non limitativi di agenti antitumorali comprendono bleomicina, metotrexato, actinomicina D, mitomicina C, vinblastina solfato, vincristina solfato, daunorubicina, adriamicina, neocarcinostatina, citosina rabinoside, fluorouracile, tetraidrofuril-5-fluorouracile, crestina, picibanil, lentinan, levamisolo, bestatina, azimexone, glicirrizina, polioli come poliol:C, poliol A:U e poliolCLC.

Esempi concreti di antibiotici utili nella presente invenzione comprendono gentamicina, dibecacina, canendomicina, lividomicina, tobramicina, amicacina, fradiomicina, sisomicina, tetraciclina cloridrato, ossitetraciclina cloridrato, rolitetraciclina, dossiciclina cloridrato, ampicillina, piperacillina, ticarcillina, ceflotin, cefaloridina, cetofiam, cefsulodin, cefmenoxima, cefmetazolo, cefalozina, cefotaxima, cefoperazone, ceftizoxima, mochisalctam, tienamicina, sulfazecin e asetroenam.

Prodotti antifebbrili utilizzabili nella presente invenzione sono esemplificati da analgesici,

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

agenti antiinfiammatori contenenti acido salicilico, sulpirina, acido flufenammico, diclofenac, indometacina, morfina, fetidina cloridrato, levorfanolo tartrato e ossimorfone, senza peraltro essere limitati a questi.

Esempi concreti, e non limitativi, di anodini impiegabili nella presente invenzione, comprendono efedrina cloridrato, metilefedrina cloridrato, noscapina cloridrato, codeina fosfato, diidrocodeina fosfato, allocramide cloridrato, clofedanolo cloridrato, picoperidammina cloridrato, cloperastina, protochilolo cloridrato, isoproterenolo cloridrato, sulbutamolo sulfato e terbutalina solfato.

Per quanto si riferisce ai rilassanti, essi sono esemplificati da cloropromazina, proclorperazina, trifltioperazina, atropina solfato, e metilscopolamina bromuro.

Come esempi di rilassanti muscolari, vi sono pridinol metansolfonato, tubocurarina cloruro e pancuronio bromuro.

Come esempi di antiepilettici, vi sono antiepilettici contenenti fenitonina, etosuximmide, acetazolammide sodica, clordiazepossido.

Esempi di agenti antiulcera comprendono metoclopramide e istidina cloridrato.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

Esempi di agenti antiipocondriaci comprendono imipramina, clomipramina, noxitilina e fenerdina solfato.

Esempi di agenti antiallergici comprendono difenidramina cloridrato, clorferinammina maleato, tripelenammina cloridrato, metdilazina cloridrato, clemizolo cloridrato, difenilpiralina cloridrato e metossifenammina cloridrato.

Come esempi di cardiocinetici, vi sono transpaioxocamphor, theofillolo, aminofillina, e etilefrina cloridrato.

Gli agenti antiaritmici possono essere esemplificati da propranolo, alprenololo, bufetololo e oxprenololo.

Esempi di agenti vasodilatatori utili nella presente invenzione comprendono ossiefedrina cloridrato, diltiazem, tolazolina cloridrato, esobendina, e bametan solfato.

Esempi di catartici ipotensivi comprendono esametonio bromuro, pentolinio, mecamilammina cloridrato, ecarazina cloridrato e clonidina.

Come esempi di prodotti antidiabetici, vi sono glimidina sodica, glipizide, fenformin cloridrato, buformin cloridrato e metformin.

Come esempi di farmaci iperlipidemici, vi sono

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n° 426/BM

pravastatina sodica, simvastatina, clinofibrato, clofibrato, simfibrato e bezafibrato.

La eparina sodica è utile come anticoagulante.

Esempi di agenti emolitici comprendono tromboplastina, trombina, menadione sodico idrosolfito, acetomenaftone, acido tranexamico, carbozocromo sodio solfonato e adrenocromo monoamminoguanidina metansolfonato.

Esempi di agenti antitubercolari comprendono isoniazide, etanbutolo e acido p-amminosalicilico.

Disponibili come ormoni nella presente invenzione vi sono il prednisolone, prednisolone sodico fosfato, dexametasone sodiosolfato, betametasone sodiofosfato, esestrolo fosfato, esestrolo acetato e metimazolo.

Gli antagonisti anestetici possono essere esemplificati da levallorphan tartrato, nalorphina cloridrato e naloxone cloridrato.

Come soppressore degli osteoclasti, nella presente invenzione, si può impiegare ipriflavone. Come promotori dell'osteogenesi utili nella presente invenzione, si possono indicare peptidi come BMP, PTH, β-TGF e IGF-1.

Esempi di soppressori dell'angiogenesi comprendono steroidi, fumagillina e fumagillolo.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 436/BM

I suddetti farmaci fisiologicamente attivi possono essere sotto forma di sali utilizzabili farmaceuticamente. Per esempio, per i farmaci fisiologicamente attivi che contengono radicali basici come gruppi amminici, si possono impiegare utilmente acidi inorganici come acido cloridrico, acido solforico e acido nitrico ed acidi organici come acido carbonico ed acido succinico. Quando i farmaci fisiologicamente attivi comprendono radicali acidi come acidi carbossilici, questi possono essere trasformati in sali farmaceuticamente accettabili con sali inorganici come sodio e potassio e composti organici basici come trietilammina e arginina.

Una migliore comprensione della presente invenzione si potrà ottenere dagli esempi seguenti che hanno scopo illustrativo ma non intendono limitare la presente invenzione.

ESEMPIO I

Preparazione di una miscela di microparticelle che incapsulano blu brillante e microparticelle contenenti rodamina (1:1) mediante doppia emulsione

Si disciolgono 0,1 g di blu brillante in 1,5 g di metanolo e si disperdono in una soluzione di 0,5 g di RG502H (Boehringer Ingelheim) in 2,0 g di clo-

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

ruro di metilene per ottenere una emulsione primaria DP1. Separatamente, si disperde una soluzione di 0,1 g di rodamina in 1,5 g di metanolo in 2,0 g di cloruro di metilene contenente 0,5 g di RG502H per ottenere una emulsione primaria DP2. Le emulsioni primarie DP1 e DP2 vengono disperse in successione in 250 ml di una soluzione allo 0,5% di alcool polivinilico in acqua preriscaldata a 25°C agitando a 3500 giri al minuto con un omogeneizzatore. Dopo aver agitato a 3000 giri/minuto per altri 15 minuti per formare l'emulsione, il solvente organico viene evaporato a 40°C per 1 ora ottenendo microparticelle solidificate. Queste sono illustrate nella fotografia al microscopio ottico di figura 1a.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

ESEMPIO COMPARATIVO I

A: Preparazione di microparticelle che incapsulano blu brillante

Si disciolgono 0,1 g di blu brillante in 1,5 g di metanolo e si disperdono in una soluzione di 1 g di RG502H (Boehringer Ingelheim) in 2,0 g di cloruro di metilene per ottenere una emulsione primaria. L'emulsione primaria viene dispersa in 250 ml di una soluzione di alcool polivinilico allo 0,5% in acqua preriscaldata a 25°C, agitando a 3500 gi-

ri/minuto con un omogeneizzatore. Si agita ancora a 3000 giri/minuto per altri 15 minuti per ottenere una emulsione, quindi si evapora il solvente organico a 40°C per 1 ora per produrre microparticelle solidificate. La figura 1b è una fotografia al microscopio ottico delle microparticelle.

B: Preparazione di microparticelle che incapsulano rodamina

Si disciolgono 0,2 g di rodamina in 3 g di metanolo e si disperdono in una soluzione di 1 g di RG502H (Boehringer Ingelheim) in 2,0 g di cloruro di metilene ottenendo una emulsione primaria. L'emulsione primaria viene dispersa in 250 ml di una soluzione allo 0,5% di alcool polivinilico in acqua preriscaldata a 25°C, agitando a 3500 giri/minuto per mezzo di un omogeneizzatore. Si agita ancora a 3000 giri/minuto per altri 15 minuti ottenendo una emulsione, quindi il solvente organico viene evaporato a 40°C per 1 ora per ottenere microparticelle solidificate. La figura 1c è una fotografia al microscopio ottico delle microparticelle.

C: Preparazione di microparticelle che incapsulano blu brillante/rodamina (1:1) con il metodo della miscelazione del polimero.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

In 3 g di metanolo si disciolgono 0,1 g di blu brillante e 0,1 g di rodamina, quindi si disperde la soluzione metanolica in una soluzione polimerica di 1 g di RG502H in 2,0 g di cloruro di metilene, ottenendo una emulsione primaria. L'emulsione primaria viene dispersa in 250 ml di una soluzione allo 0,5% di alcool polivinilico in acqua preriscaldata a 25°C, agitando a 3500 giri al minuto per mezzo di un omogeneizzatore. Si agita ancora a 3000 giri/minuto per altri 15 minuti ottenendo una emulsione, quindi si evapora il solvente organico a 40°C per 1 ora per produrre microparticelle solidificate. La figura 1c è una fotografia al microscopio ottico delle microparticelle.

Come si vede nelle rispettive fotografie al microscopio ottico delle figure 1a a 1d per l'esempio I e per gli esempi comparativi 1A a 1C, le microparticelle preparate nell'esempio 1 sono in miscela di quantità uguali a quelle preparate negli esempi comparativi 1A e 1B, mentre le microparticelle preparate mediante il metodo di miscelazione del polimero dell'esempio comparativo 1C assumono un colore misto delle due.

ESEMPIO II

Preparazione di microparticelle biodegradabili

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n° 426/BM

che incapsulano leuprolide acetato con capacità di rilascio continuo del farmaco per 28 giorni o più.

Tipo A: In 0,28 g di metanolo si disciolgono 62,5 mg di leuprolide acetato. Questa soluzione metanolica viene dispersa in 1,125 g di cloruro di metilene contenente 0,438 g di PLGA (RG502H, Boehringer Ingelheim) che ha un peso molecolare di 8600, con lattide:glicolide = 50:50, per ottenere una emulsione primaria DP1. Separatamente si disciolgono 62,5 mg di leuprolide acetato in 0,37 g di metanolo, seguiti da dispersione della soluzione metanolica in 1,313 g di cloruro di metilene contenente 0,438 g di un PLGA (RG503H, Boehringer Ingelheim) che ha un peso molecolare di 33.000, con un contenuto lattide:glicolide = 50:50, per ottenere una emulsione primaria DP2. Le emulsioni primarie DP1 e DP2 vengono disperse in successione in 250 ml di una soluzione di alcool polivinilico allo 0,3% in acqua preriscaldata a 25°C, mentre vengono agitate a 3500 giri/minuto con l'impiego di un omogeneizzatore. Dopo aver agitato a 3000 giri/minuto per altri 15 minuti per ottenere una emulsione, il solvente organico viene evaporato a 40°C per 2 ore per formare microparticelle solidificate.

Le microparticelle sono mostrate nelle foto-

CERRARO Elena
Iscrizione Albo nr 436/BM

grafie al microscopio elettronico a scansione di figura 2, ingrandite 100 volte (a) e 800 volte (b). Nella fotografia al microscopio elettronico a scansione di figura 2b, si osserva che la microparticella di destra presenta pori derivati dal polimero 502H dell'emulsione DP1, mentre la microparticella di sinistra si presenta non porosa, ed è ottenuta dal 503H dell'emulsione DP2.

Tipo B: si disciolgono 75 mg di leuprolide acetato in 0,27 g di metanolo e si disperdono in 1,093 g di cloruro di metilene contenente 0,425 g di RG502H per ottenere una emulsione primaria DP1. Separatamente si disperde una soluzione di 75 mg di leuprolide acetato in 0,36 g di metanolo in una soluzione polimerica di 0,425 g di RG503H in 1,275 g di cloruro di metilene per ottenere una emulsione primaria DP2. Successivamente si preparano microparticelle secondo la procedura del tipo A dell'esempio 2.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n° 426/BM

ESEMPIO COMPARATIVO II

A: Preparazione di microparticelle di RG502H che incapsulano leuprolide acetato.

Si disciolgono 62,5 mg di leuprolide acetato in 0,28 g di metanolo e si disperdono in 1,125 g di cloruro di metilene contenente 0,438 g di RG502H

per formare una emulsione primaria. L'emulsione primaria viene dispersa in 125 ml di una soluzione di alcool polivinilico allo 0,3% in acqua preriscaldata a 25°C e agitando a 3500 giri al minuto con un omogeneizzatore. Successivamente si preparano microparticelle con la stessa procedura adottata per le particelle tipo a dell'esempio 2.

B: Preparazione di microparticelle di RG503H che incapsulano leuprolide acetato.

Si disciolgono 62,5 mg di leuprolide acetato in 0,378 g di metanolo e si disperdono in 1,313 g di cloruro di metilene contenente 0,438 g di RG503H per formare una emulsione primaria. L'emulsione primaria viene dispersa in 125 ml di una soluzione allo 0,3% di alcool polivinilico in acqua distillata preriscaldata a 25°C, agitando a 3500 giri al minuto per mezzo di un omogeneizzatore. Successivamente si preparano le microparticelle secondo la procedura adottata per il tipo A dell'esempio 2.

C: Preparazione di microparticelle di RG502G/RG503H (1:1) che incapsulano leuprolide acetato

In 0,65 g di metanolo si disciolgono 125 mg di leuprolide acetato che viene poi disperso in una soluzione di 0,438 g di RG502H e 0,438 g di RG503H

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n. 426/BM

in 2,438 g di cloruro di metilene per ottenere una emulsione primaria. Questa emulsione viene dispersa in 250 ml di una soluzione di alcool polivinilico allo 0,3% in acqua distillata preriscaldata a 25°C, agitando a 3500 giri/minuto per mezzo di un omogeneizzatore.

Successivamente si preparano microparticelle secondo la procedura adottata per il tipo A dell'esempio 2.

ESEMPIO DI PROVA I

Rilascio di farmaco in vitro da microparticelle

Le microparticelle biodegradabili preparate nell'esempio II e nell'esempio comparativo II vengono esaminate, insieme al prodotto del commercio Leuplin (Takeda, Giappone) come controllo, per il rilascio del farmaco in vitro nel modo seguente. 5 mg di ciascuna delle microparticelle liofilizzate vengono disperse in 35 fiale, ciascuna contenente tampone fosfato 0,033 M (pH 7) per liberare il farmaco a 37°C. Il giorno della prova ed il primo, quarto, settimo, quattordicesimo, ventunesimo e ventottesimo giorno, dalla prova, ciascuno dei campioni di prova viene prelevato dalle 5 fiale e centrifugato. Le microparticelle così ottenute vengono

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n. 436/BM

estratte con cloruro di metilene/tampone acetato (1:1 volume/volume) ed il leuprolide trasferito nello strato di acetato viene determinato mediante HPLC a 280 nm con una fase mobile di soluzione acquosa al 28% di acetonitrile contenente lo 0,1% di acido trifluoroacetico e con una portata di 1,0 ml/minuto. I risultati sono riportati nella figura 3.

ESEMPIO DI PROVA II

Contenuto di leuprolelina nel sangue

Le microparticelle biodegradabili preparate nell'esempio II vengono esaminate, insieme al prodotto del commercio Leuplin (Takeda, Giappone) come controllo, per il rilascio del farmaco in vivo nel modo seguente. Per la determinazione della capacità di rilascio del farmaco, si quantificano i livelli di leuprolelina nel sangue. Per questa prova si impiegano 10 ratti maschi SD. Le microparticelle preparate nell'esempio II vengono somministrate a 5 dei ratti maschi SD mediante iniezione intramuscolare, mentre agli altri 5 ratti si inietta Leuplin sempre per via intramuscolare. Le microparticelle vengono somministrate in una dose di 0,9 mg per ratto. Si prelevano campioni di sangue dalla vena caudale di ciascuno dei ratti a 1 giorno, 3 giorni,

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

7 giorni, 14 giorni, 21 giorni, 28 giorni e 35 giorni dall'iniezione e si determinano i livelli di leuprolelina. I risultati sono riportati nella figura 4.

ESEMPIO DI PROVA III

Contenuto di testosterone nel sangue

Le microparticelle biodegradabili preparate nell'esempio II vengono esaminate, insieme a Leuplin (Takeda, Giappone) disponibile in commercio come controllo, per valutare l'attività del farmaco in vivo nel modo seguente. Per la determinazione dell'attività del farmaco, si quantificano i livelli di testosterone nel sangue. Per questa prova si impiegano 10 ratti maschi SD. Le microparticelle preparate nell'esempio II vengono somministrate a 5 dei ratti maschi SD mediante iniezione intramuscolare, mentre agli altri 5 ratti si inietta, sempre per via intramuscolare, Leuplin. Le microparticelle vengono somministrate in una dose di 0,9 mg per ratto. Campioni di sangue vengono prelevati dalla vena caudale di ciascuno dei ratti dopo 1 giorno, 3 giorni, 7 giorni, 14 giorni, 21 giorni, 28 giorni e 35 giorni dall'iniezione, per determinare il livello di leuprolelina. I risultati sono riportati nella figura 4.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/(BM)

ESEMPIO III

Preparazione di microparticelle biodegradabili che incapsulano adriamicina con capacità di rilascio continuo del farmaco per due mesi o più

In 0,563 g di metanolo si disciolgono 20 mg di adriamicina. Questa soluzione metanolica viene dispersa in 2,253 g di cloruro di metilene contenente 0,875 g di RG502H per ottenere una emulsione primaria di DP1. Separatamente si disciolgono 15 mg di adriamicina in 0,735 g di metanolo, quindi si disperde la soluzione metanolica in 2,624 g di cloruro di metilene contenente 0,875 g di PLGA (RG502, Boehringer Ingelheim) che ha un peso molecolare di 14.500, con un rapporto lattide:glicolide pari a 50:50, per ottenere una emulsione primaria di DP2.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n° 436/BM

Le emulsioni primarie DP1 e DP2 vengono disperse contemporaneamente in 500 ml di una soluzione allo 0,3% di alcool polivinilico in acqua preriscaldata a 25°C agitando a 3500 giri al minuto per mezzo di un omogeneizzatore. Successivamente si preparano microparticelle seguendo la procedura adottata per il tipo A dell'esempio 2.

ESEMPIO IV

Preparazione di microparticelle biodegradabili che incapsulano leuprolide acetato, con capacità di

rilascio continuo del farmaco per tre mesi o più

Tipo A: in 0,282 g di metanolo si disciolgono 62,5 mg di leuprolide acetato. Questa soluzione metanolica viene dispersa in 1,127 g di cloruro di metilene contenente 0,438 g di RG502H per ottenere una emulsione primaria DP1. Separatamente si disciolgono 187,5 mg di leuprolide acetato in 0,492 g di metanolo, quindi si disperde la soluzione metanolica in 1,97 g di cloruro di metilene contenente 1,3 g di polilattide (PLA0015, Wako, Giappone) che ha un peso molecolare di 15.000, ottenendo una emulsione primaria DP2. Le emulsioni primarie DP1 e DP2 vengono disperse in successione in 500 ml di una soluzione allo 0,3% di alcool polivinilico in acqua preriscaldata a 25°C, agitando a 3500 giri/minuto per mezzo di un omogeneizzatore. Si preparano quindi microparticelle seguendo la procedura adottata per il tipo A dell'esempio 2.

Tipo B: si disciolgono 125 mg di leuprolide acetato e 0,328 g di metanolo e si disperdono in 1,3 g di cloruro di metilene contenente 0,875 g di PLA0015 per ottenere una emulsione primaria. La metà dell'emulsione primaria viene dispersa in 125 ml di una soluzione allo 0,1% di alcool polivinilico in acqua distillata, agitando a 3500 giri/minuto

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n° 436/BM

per mezzo di un omogeneizzatore. In questa dispersione si aggiungono lentamente 125 ml di soluzione allo 0,3% di alcool polivinilico in acqua distillata, dopo di che, mantenendo la temperatura a 25°C, si disperde l'altra metà dell'emulsione primaria. Successivamente si preparano microparticelle operando secondo la procedura illustrata per il tipo A dell'esempio 2.

ESEMPIO V

Preparazione di microparticelle biodegradabili che incapsulano leuprolide acetato, con capacità di rilascio continuo del farmaco di quattro mesi o più

In 0,282 g di metanolo si disciolgono 62,5 mg di leuprolide acetato. Questa soluzione metanolica viene dispersa in 1,127 g di cloruro di metilene contenente 0,438 g di RG502H ottenendo una emulsione primaria DP1. Separatamente si disciolgono 187,5 mg di leuprolide acetato in 0,492 g di metanolo, quindi si disperde la soluzione metanolica in 1,97 g di cloruro di metilene contenente 1,3 g di un PLGA (RG502, Boehringer Ingelheim) che ha un peso molecolare di 14.500, con un rapporto lattide:glicolide pari a 50:50, per ottenere una emulsione primaria DP2. Le emulsioni primarie DP1 e DP2 vengono disperse in successione in 500 ml di una

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n° 420/BM

soluzione allo 0,3% di alcool polivinilico in acqua preriscaldata a 25°C, agitando a 3500 giri al minuto per mezzo di un omogeneizzatore. Successivamente si preparano microparticelle secondo la procedura adottata per il tipo A dell'esempio 2.

ESEMPIO VI

Preparazione di microparticelle biodegradabili che incapsulano leuprolide acetato con capacità di rilascio continuo del farmaco di sei mesi o più

In 0,328 g di metanolo si disciolgono 125 mg di leuprolide acetato. Questa soluzione metanolica viene dispersa in 1,313 g di cloruro di metilene contenente 0,875 g di PLA0015 per ottenere una emulsione primaria DP1. Separatamente, si disciolgono 125 mg di leuprolide acetato in 0,735 g di metanolo, quindi si disperde la soluzione metanolica in 2,624 g di cloruro di metilene contenente 0,875 g di un PLGA (RG858, Boehringer Ingelheim) che ha un peso molecolare di 220.000, con un rapporto lattide:glicolide pari a 85:15, per ottenere una emulsione primaria DP2. Le emulsioni primarie DP1 e DP2 vengono, in successione, disperse in 500 ml di una soluzione allo 0,3% di alcool polivinilico in acqua preriscaldata a 25°C, agitando a 3500 giri/minuto per mezzo di un omogeneizzatore. Successivamente si

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

preparano microparticelle secondo la procedura adottata per il tipo A dell'esempio 2.

ESEMPIO VII

Preparazione di microparticelle biodegradabili che incapsulano differenti polimeri

Si preparano emulsioni primarie usando polimeri biodegradabili quali quelli indicati nella tabella seguente, e si impiegano per preparare microparticelle in modo analogo a quello adottato per il tipo A dell'esempio II.

Lotto N.	Polimeri (peso molecolare ponderale medio) DP1	DP2
DKLP134	Polibutadiene (8000)	Polilattide (10000)
DKLP141	Poliidrossibutirrene (9000)	Polivinilacetato (12000)
DKLP146	Polipropilene (6000)	Polibutadiene (15000)
DKLP153	Polivinilacetato (9000)	Polipropilene (18000)
DKLP155	Policaprolattone (8500)	Polibutadiene (13000)
DKLP162	Polivinilbutilale (7000)	Polistirene (9000)
DKLP167	Polistirene (6000)	Poliodrossibutirrene (11000)

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

Negli esempi precedenti, le combinazioni delle due emulsioni primarie con proprietà fisiche e chimiche differenti l'una dall'altra, vengono unite in rapporti predeterminati per preparare microparticelle che possono liberare continuamente farmaci per periodi di tempo desiderati.

Nella tabella seguente, sono riportate combinazioni teoriche delle due emulsioni, che sono in grado di liberare continuamente farmaci per periodi di tempo prolungati a seconda dei polimeri (peso molecolare, idrofilicità, polimero/solvente organico, e lattide/glicolide), farmaci e additivi.

Fattori fisici e chimici che influenzano le proprietà di rilascio	Emulsioni		
	Emulsione 1 Velocità di rilascio alta	Emulsione 2 Periodo di rilascio lungo Rilascio iniziale lento	Combinazione
Peso molecolare	Basso	Grande	Rilascio
Idrofilicità polimero	Grande	Bassa	continuo per
Rapporto polimero/solvente organico	Basso	Alto	periodi di
Rapporto lattide/glicolide[1]	Basso	Alto	tempo
Rapporto farmaco/polimero	Alto	Basso	prolungati
Contenuto additivi nel farmaco[2]	Alto	Basso (o nullo)	

[1] Copolimero lattide/glicolide

[2] sali come sali di sodio e di calcio, acidi come acido citrico ed acido tartarico e amminoacidi

Le emulsioni primarie possono venire combinate in vari numeri di casi. Per esempio quattro emulsioni che hanno un peso molecolare elevato, un peso molecolare basso, un rapporto sbilanciato tra polimero e un additivo possono venire, in combinazione,

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

disperse in modo sincrono o in successione per produrre microparticelle in solvente organico con periodi di tempo di rilascio adatti.

Come descritto nella presente, combinazioni di microparticelle in cui le microparticelle costituenti mantengono le loro proprietà di rilascio del farmaco nella loro integrità possono venire preparate con un procedimento semplice secondo la presente invenzione. Quindi, una combinazione adatta delle microparticelle può liberare efficacemente i farmaci per un periodo di tempo desiderato.

La presente invenzione è stata descritta in modo esemplificativo, e si comprenderà che la terminologia usata intende riferirsi alla descrizione anziché avere valore limitativo. Molte modifiche e variazioni della presente invenzione possono essere portate alla luce degli insegnamenti precedenti. Si comprenderà quindi che, nello scopo delle rivendicazioni allegate, l'invenzione può essere realizzata in modo diverso da quanto specificamente descritto.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

RIVENDICAZIONI

1. Procedimento per la preparazione di microparticelle a rilascio prolungato usando un procedimento di multi-emulsione, comprendente le fasi di:

disciogliere o disperdere un farmaco in ciascuno di almeno due oli per ottenere almeno due fasi oleose o emulsioni primarie, ciascuna contenente un polimero biodegradabile;

disperdere le almeno due fasi oleose o emulsioni primarie in una fase acquosa, contemporaneamente oppure in successione; e

rimuovere i solventi organici dalla soluzione di farmaco dispersa per produrre le microparticelle.

2. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui la fase di dispersione delle fasi oleose primarie o emulsioni in una fase acquosa viene realizzata disperdendo una delle fasi oleose primarie in una fase acquosa e quindi, immediatamente, l'altra nella fase acquosa, oppure disperdendo una delle fasi oleose primarie in una fase acquosa, cambiando i fattori chimici e/oppure fisici nella fase acquosa e disperdendo l'altra delle fasi oleose primarie nella fase acquosa.

3. Procedimento secondo la rivendicazione 2,

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

in cui il cambiamento dei fattori fisici e/oppure chimici viene eseguito agitando la fase acquosa ad una velocità di 100-5000 giri al minuto, portando la fase acquosa ad una quantità da 20 a 1000 volte più grande di quella delle fasi oleose primarie o emulsioni, aggiungendo un emulsionante in una quantità di 1-10% nella fase acquosa, detto emulsionante essendo scelto dal gruppo costituito da polisorbato e alcool polivinilico, aggiungendo un additivo in una quantità da 0,1 al 5% nella fase acquosa, detto additivo essendo scelto dal grupp costituito da gelatina, carbossimetilcellulosa e calcio, e/oppure controllando la temperatura della fase acquosa nel campo da 5 a 40°C.

4. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui le fasi oleose o emulsioni primarie vengono preparate mediante un procedimento di doppio emulsionamento di acqua/olio/acqua in cui una soluzione di farmaco disciolto in acqua viene dispersa in un solvente organico contenente un polimero biodegradabile e quindi in una fase acquosa oppure mediante un procedimento con emulsione singola olio/acqua in cui un farmaco o un polimero biodegradabile vengono disciolti insieme in un solvente organico oppure una miscela di solventi organici e dispersi in una

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n° 426/BM

fase acquosa.

5. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui il polimero biodegradabile viene scelto dal gruppo costituito da polilattide, poliglicolide, copolimero lattide-glicolide, e loro miscele.

6. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui il polimero biodegradabile è scelto dal gruppo costituito da acetato di cellulosa, acetato propionato di cellulosa, butirrato di cellulosa, propionato di cellulosa, valerato di cellulosa, polimero cumarone-indene, dibutilammino idrossipropiletere, etilcellulosa, copolimero etilene-acetato di vinile, glicerolo distearato, idrossipropilmetilcellulosa ftalato, copolimero 2-metil-5-vinilpiridinmetacrilato-acido metacrilico, poliamminoacidi, polianidridi, policaprolattone, policarbonato, polibutadiene, poliesteri, poliesteri alifatici, polibutadiene, poliesteri, acido poliidrossibutirrico, polimetilmetacrilato, esteri dell'acido polimetacrilico, esteri poliolici, polipropilene, polisaccaridi, polistirene, polivinilacetale dietilamminoacetato, polivinilacetato, alcool polivinilico, polivinilbutirrale, polivinilformale, proteine, copolimero cloruro di vinile-propilene-vinilacetato, copolimero cloruro di vini-

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

le-vinilacetato, cere e acidi grassi superiori.

7. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui il farmaco è sotto forma di sale scelto dal gruppo costituito da peptidi e/oppure proteine fisiologicamente attive, agenti antitumorali, antibiotici, antifebbrili, anodini, agenti antiinfiammatori, espettoranti, rilassanti, rilassanti muscolari, agenti antiepilettici, agenti antiulcera, agenti antiipocondriaci, agenti antiallergici, cardiotonici, agenti antiaritmici, agenti vasodilatatori, catartici ipotensivi, prodotti antidiabetici, agenti antiiperlipemici, anticoagulanti, agenti emolitici, agenti antitubercolari, ormoni, antagonisti anestetici, soppressori degli osteoclasti, promotori dell'osteogenesi, soppressori dell'angiogenesi e loro miscele.

8. Procedimento secondo la rivendicazione 1, in cui ciascuno delle fasi oleose o emulsioni primarie comprende un farmaco in una quantità dall'1 al 50% ed un polimero in una quantità dal 5 al 50%.

9. Procedimento secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-7, in cui il farmaco viene scelto dal gruppo costituito da goserellina acetato, nafarelina acetato, buserelina acetato, leuprolelina acetato, e loro miscele.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n° 426/BM

10. Procedimento secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-5, in cui i polimeri biodegradabili hanno rispettivamente un peso molecolare ponderale medio da 600 a 10.000 e da 25.000 a 35.000, con un rapporto molare di lattide:glicolide compreso tra 45:55 e 55:45 e vengono dispersi nella fase acquosa contemporaneamente oppure in successione, per cui le microparticelle possono rilasciare farmaci per periodi di tempo prolungati.

11. Microparticelle a rilascio prolungato, preparate mediante il procedimento secondo la rivendicazione 1.

p.i.: DONG KOOK PHARMACEUTICAL CO., LTD.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

C.C.I.A.A. Torino

FIG.1a

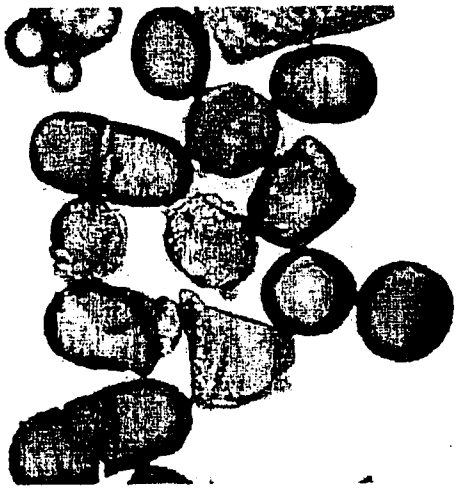
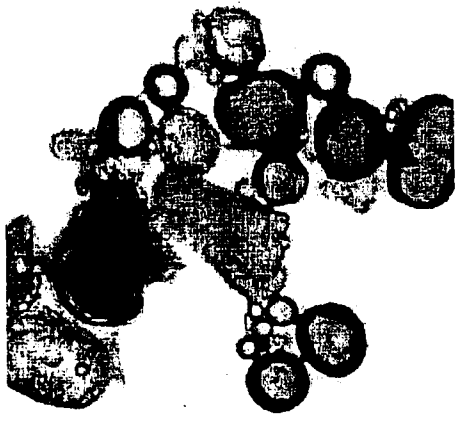


FIG.1b



p.i.: DONG KOOK PHARMACEUTICAL CO., LTD.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

Caso PO-K1053IT

FIG.1c

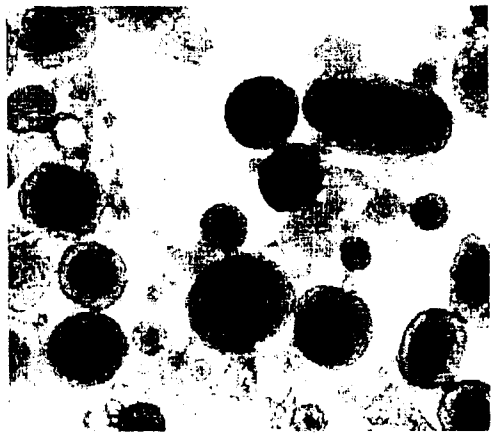
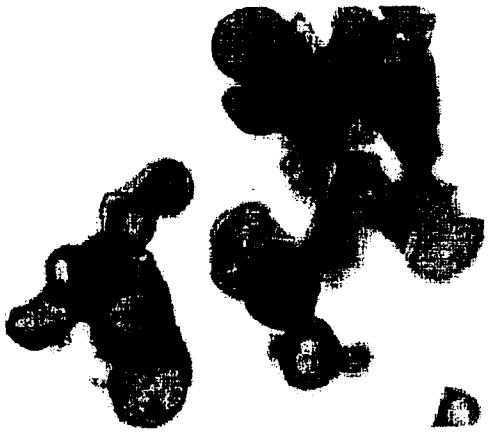


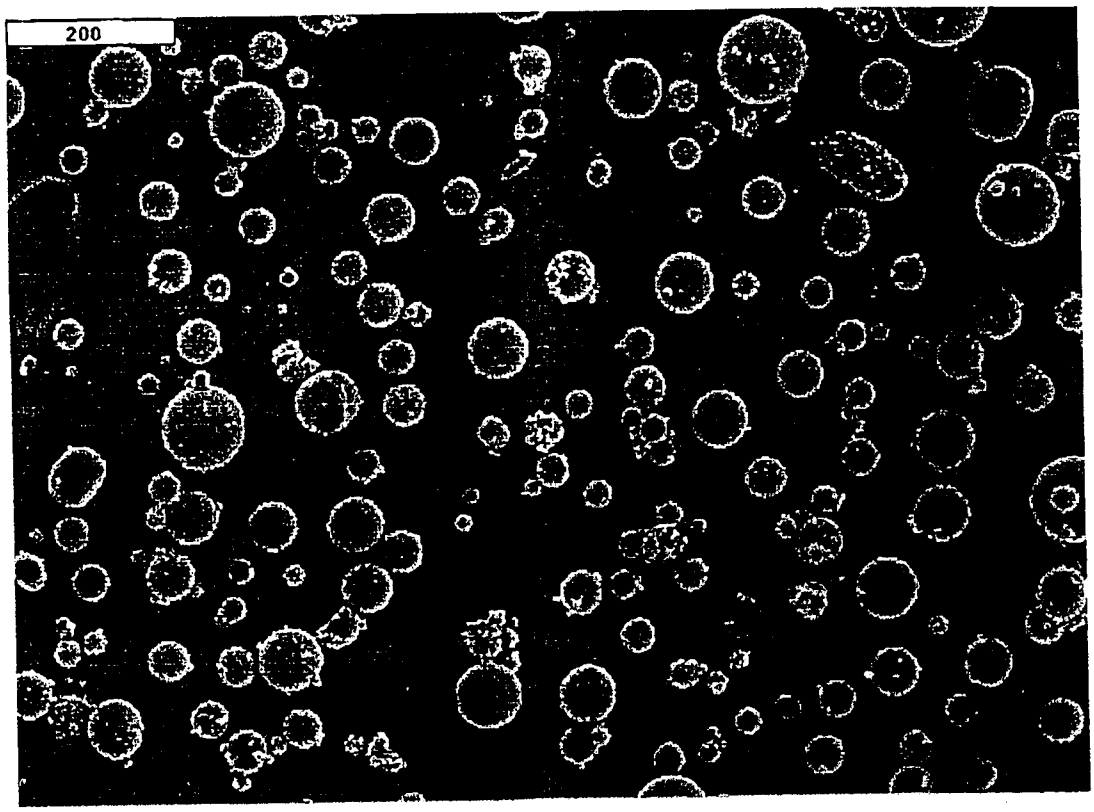
FIG.1d



p.i.: DONG KOOK PHARMACEUTICAL CO., LTD.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n. 430/BM

FIG.2a

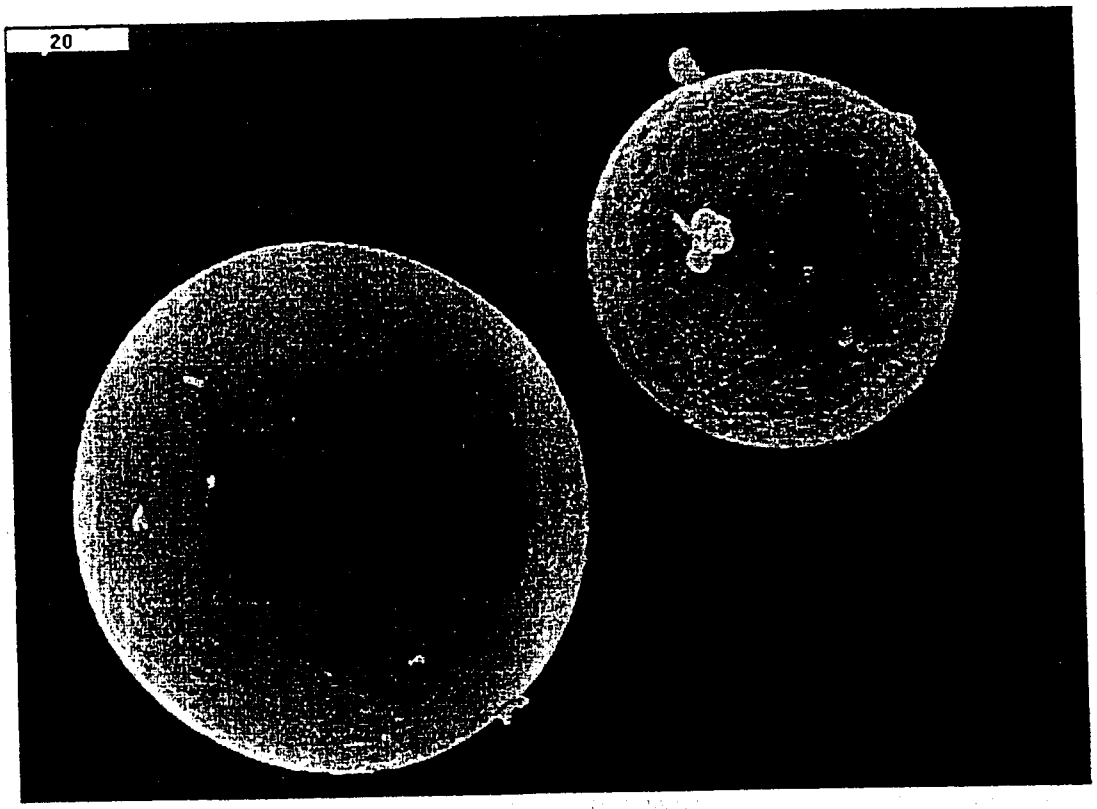


p.i.: DONG KOOK PHARMACEUTICAL CO., LTD.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo nr 426/BM

C.C.I.A.A. Torino

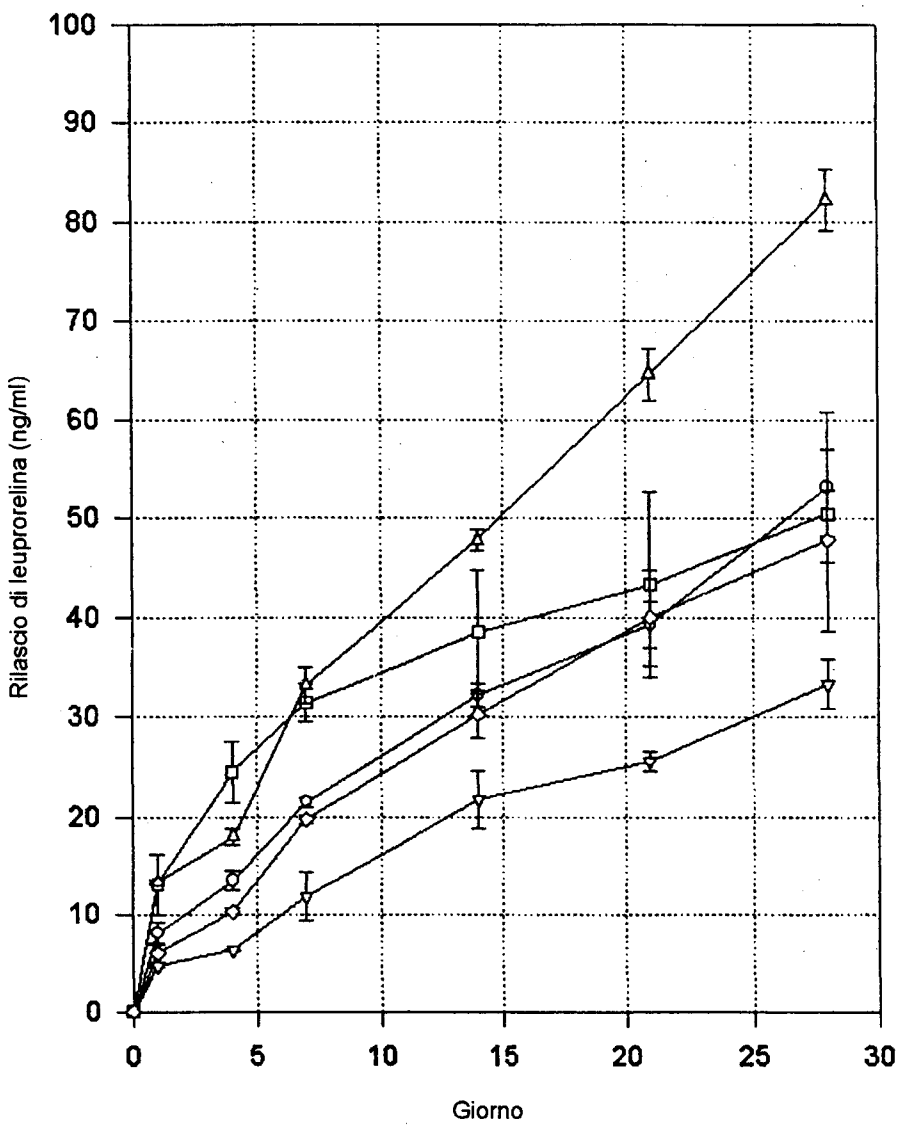
FIG.2b



p.i.: DONG KOOK PHARMACEUTICAL CO., LTD.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n. 436/BM

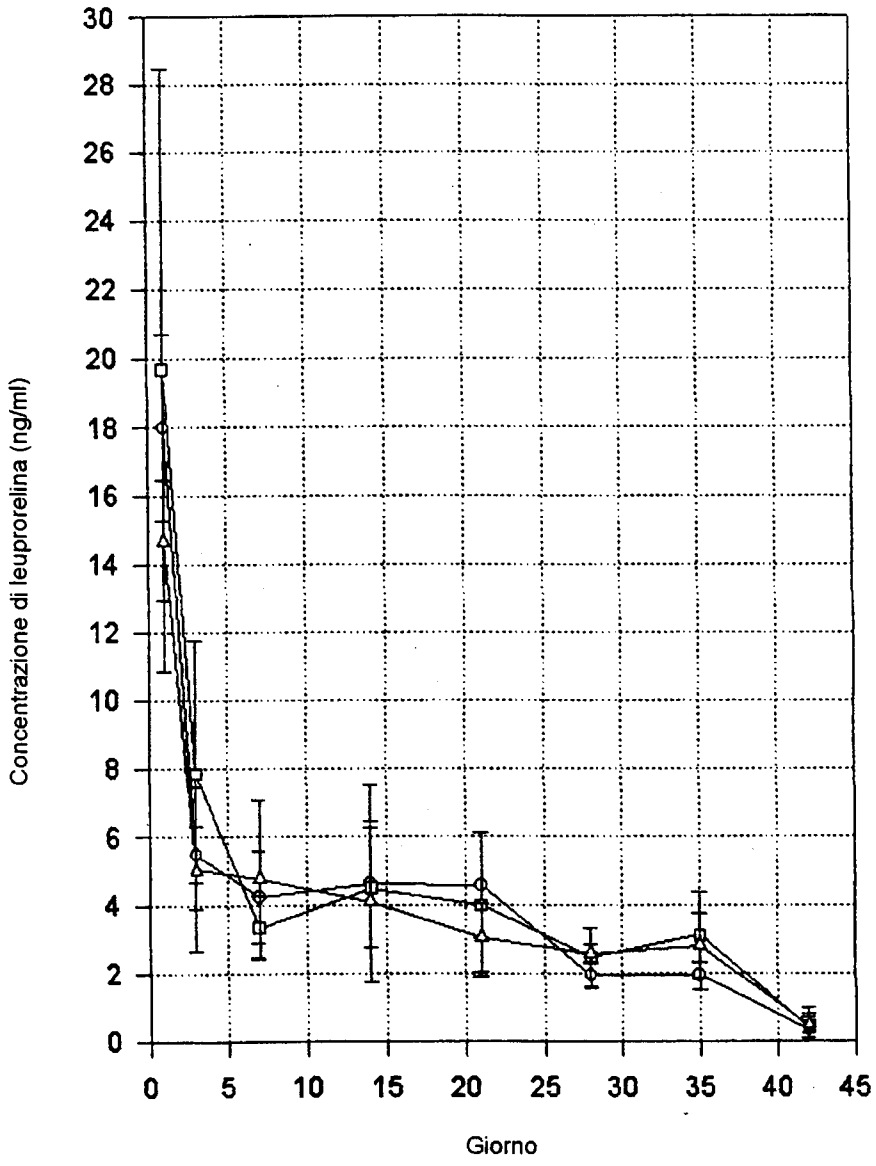
FIG.3



p.i.: DONG KOOK PHARMACEUTICAL CO., LTD.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n° 426/BM

FIG.4

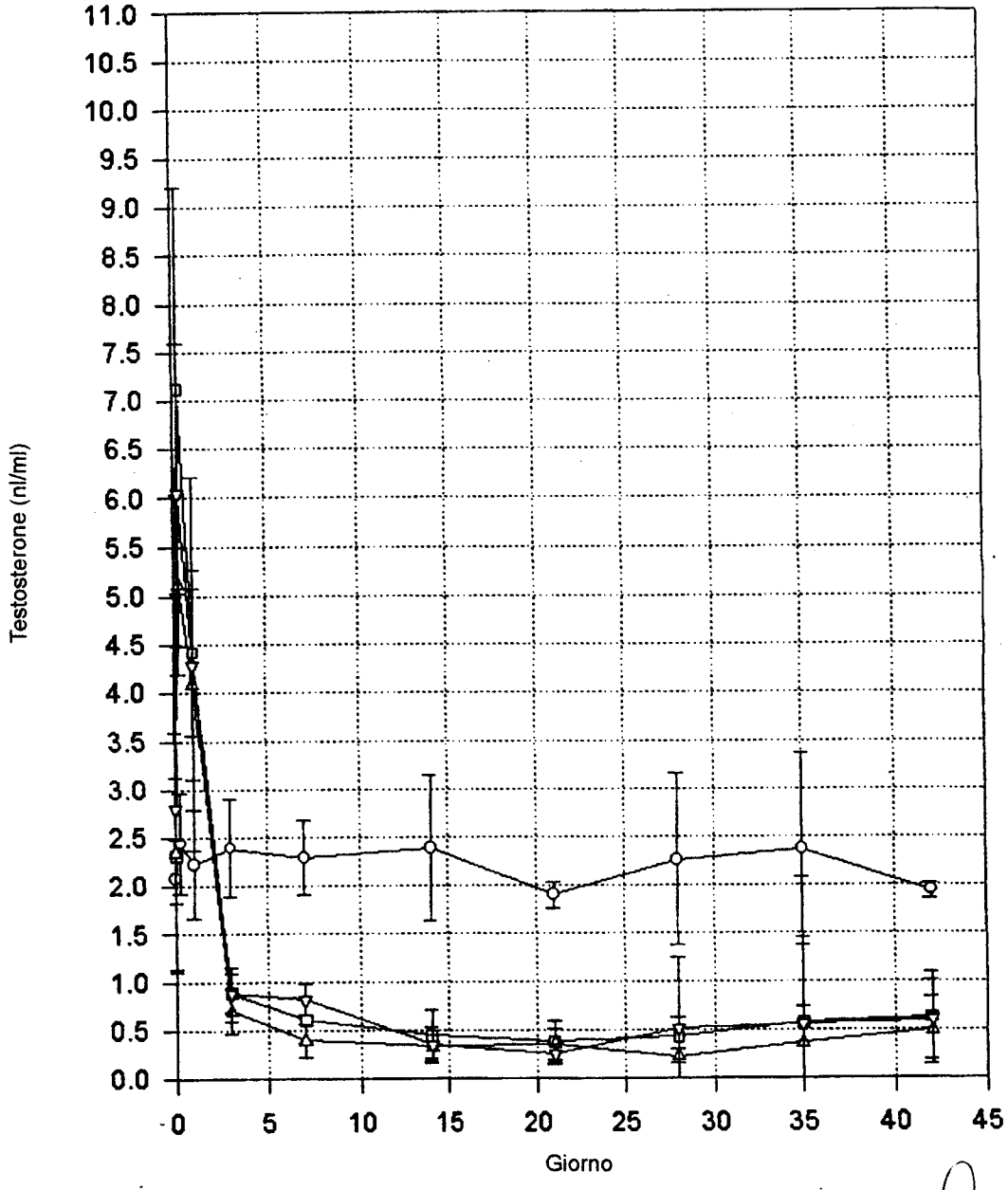


p.i.: DONG KOOK PHARMACEUTICAL CO., LTD.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n° 426/BM

TO 2000A 000963

FIG.5



p.i.: DONG KOOK PHARMACEUTICAL CO., LTD.

CERBARO Elena
Iscrizione Albo n. 430/BM