

Brevet N° **85512**  
du **17 août 1984**  
Titre délivré : **24 AVR. 1985**

GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG

BL-3642/EF/EG



Monsieur le Ministre  
de l'Économie et des Classes Moyennes  
Service de la Propriété Intellectuelle  
LUXEMBOURG

*aj. b.m.*

### Demande de Brevet d'Invention

*rubric corrigée du 1.10.84*

#### I. Requête

La société dite STERWIN A.G., Zeughausgasse 9, CH- 6300 ZUG, (1)  
représentée par MM FREYLINGER Ernest T. & MEYERS Ernest, ing. cons. en  
propr. ind., 46, rue du Cimetière, Luxembourg, agissant en qualité de (2)  
mandataires

dépose(nt) ce dix-sept août mil neuf cent quatre vingt quatre (3)  
à 15.00 heures, au Ministère de l'Économie et des Classes Moyennes, à Luxembourg :

1. la présente requête pour l'obtention d'un brevet d'invention concernant : (4)  
Préparation de compositions d'aérosols.

2. la délégation de pouvoir, datée de Zug le 22 juin 1984  
3. la description en langue française de l'invention en deux exemplaires;  
4. / planches de dessin, en deux exemplaires;  
5. la quittance des taxes versées au Bureau de l'Enregistrement à Luxembourg,

le quatorze août mil neuf cent quatre vingt quatre  
déclare(nt) en assumant la responsabilité de cette déclaration, que l'(es) inventeur(s) est (sont) :

John Gerard McCURK, Chapel Lands, Ailwick, NE66 1ER, England (5)  
George Conway GILROY, Malaga Close 12, St. Johns, Newcastle-upon-Tyne,  
NE5 19B, England,  
Alastair Roderick ROSS, 18 London Road, Guildford, Surrey GU1 1TN, England  
revendique(nt) pour la susdite demande de brevet la priorité d'une (des) demande(s) de  
(6) brevet No 83-22178 déposée(s) en (7) Grande Bretagne  
le dix-sept août mil neuf cent quatre vingt trois (8)

au nom de STERWIN A.G. (9)  
élit(é lisent) pour lui (elle) et, si désigné, pour son mandataire, à Luxembourg  
46, rue du Cimetière (10)  
solicite(nt) la délivrance d'un brevet d'invention pour l'objet décrit et représenté dans les  
annexes susmentionnées, — avec ajournement de cette délivrance à / mois. (11)

Le un des mandataires

#### II. Procès-verbal de Dépôt

La susdite demande de brevet d'invention a été déposée au Ministère de l'Économie et des Classes Moyennes, Service de la Propriété Intellectuelle à Luxembourg, en date du :

17 août 1984

à 15.00 heures



Pf. le Ministre  
de l'Économie et des Classes Moyennes,  
p. d.

A 68007

(1) Nom, prénom, firme, adresse — (2) s'il a lieu — (3) date du dépôt  
en toutes lettres — (4) titre de l'invention — (5) noms des déposés — (6) brevet, certificat d'addition, modèle d'utilité — (7)  
pays — (8) date — (9) déposant originaire — (10) adresse — (11) 6, 12 ou 18 mois.

Office de Brevets  
FREYLINGER & ASSOCIES

Mandataires agréés  
près l'Office Européen  
des Brevets

L-1011 Luxembourg  
Boîte Postale 1153  
46, rue du Cimetière  
Téléphone: 49 41 31  
Télex: 1564 patlux  
Télégramme: freypatent

Ernest T. Freylinger, ing. dipl.  
Michel Van Malderen, lic. chim.  
Ernest Meyers, phys. dipl.

V/Réf. :

N/Réf. : BL-3642/EM/EG

Ministère de l'Economie Nationale  
et des Classes Moyennes  
Service de la Propriété Industrielle  
LUXEMBOURG



Luxembourg, le 1er octobre 1984

DECLARATION DU TITULAIRE

de la demande de brevet d'invention du 17 août 1984,  
No 85 512, au nom de STERWIN A.G.

pour : "Préparation de compositions d'aérosols."

La présente déclaration est destinée à servir de

NOTICE CORRECTIVE

des documents déposés et à être conservée dans le dossier de la susdite demande, aux fins de faire constater l'erreur mentionnée aux tiers. Copie de la présente déclaration pourra être annexée au titre officiel du brevet, à toute copie du brevet, soit encore à tout document de priorité.

Pour le Titulaire, STERWIN A.G.  
le mandataire

La présente notice rectificative, n'engageant pas la responsabilité du Service de la propriété industrielle,

- 1 OCT. 1984

lui rense le \_\_\_\_\_

Meyers Ernest

LECTURE RECTIFIEE

page 8 ligne 20 : "ses esters" est à remplacer par "ses sels".  
page 8 ligne 35 : ajouter "oral" après "intravaginal"  
Exemples 2,5 et 6 : remplacer les deux premières lignes par:  
"On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 1, à l'exception que le propulseur est utilisé sous forme d'un mélange de 40:60 p/p de dichlorodifluorométhane et de dichlorotétrafluorométhane et que le premier récipient est muni d'une soupape."  
page 23 ligne 16 : supprimer "pape".

Bureaux en Belgique :  
B-1080 Bruxelles  
Avenue J.-S. Bach. 22/43  
Téléphone: (02) 465 99 15  
Télex: 63628 patbel

B-4900 Liege  
Sc de la Sauvenière. 85/042  
Téléphone (041) 23 54 06

Revendication de la priorité d'une  
demande de brevet déposée en Grande  
Bretagne le 17 août 1983 sous le  
No 83-22178

---

B r e v e t   d ' i n v e n t i o n

---

Préparation de compositions d'aérosols.

STERWIN A.G.  
Zeughausgasse 9  
CH - 3600 ZUG  
Suisse

La présente invention concerne la préparation de compositions d'aérosols et, de manière plus particulière, la préparation in situ de liposomes en se servant d'un système d'aérosol sous pression.

5 Certains composés à activité thérapeutique s'administrent à des patients par inhalation, c'est-à-dire que ces substances sont introduites dans les voies respiratoires par le nez ou la bouche sous la forme d'une vapeur ou d'un gaz, ou sous la forme d'un brouillard,  
10 en même temps qu'une matière servant de support ou de véhicule qui se présente sous la forme d'une vapeur ou d'un gaz. De manière similaire, pour certains traitements de la peau, par exemple, pour le traitement de plaies ouvertes ou de foulures ou d'entorses, pour le  
15 traitement de troubles dermatologiques, ou à des fins cosmétiques, il peut être souhaitable d'administrer un composé actif par pulvérisation, sous la forme d'un gaz, d'une vapeur ou d'un brouillard. Dans chaque circonstance, il est souhaitable qu'une proportion aussi élevée  
20 que possible du composé actif intact atteigne l'endroit où l'on attend qu'il exerce son action et, dans ce cas, il arrive quelquefois que le composé actif doive demeurer intact pendant une certaine période à l'endroit où l'on attend qu'il exerce son action. Cela revient à dire que  
25 le composé actif doit être administré sans qu'il se décompose, que ce soit au cours de son transit ou immédiatement lors de son entrée en contact avec le patient.

Ainsi, par exemple, lors de l'administration du composé bronchodilatateur anti-asthmatique connu sous le nom de bitoltérol (décrit dans la description du brevet britannique N° 1 298 771), il est souhaitable d'administrer le composé en manière telle que l'on obtienne une pénétration maximale des bronches par la substance active, de façon à parvenir à des taux de composé actif des plus efficaces aux endroits d'action nécessaires.

Dans le passé, on a suggéré de produire des compositions de liposomes contenant des substances biologiquement actives et des compositions de ce genre sont décrites, par exemple, dans les descriptions des brevets britanniques N° 1 575 343, 1 575 344 et 2 013 609 A. Cependant, dans des compositions connues de ce type, la matière liposomique en est une qui est préparée au préalable et séchée, typiquement par lyophilisation (séchage par congélation). On reconstitue ensuite la matière liposomique par mélange à l'eau.

De même, on connaît des compositions d'aérosols contenant diverses matières cosmétiques et thérapeutiques -voir par exemple les descriptions des brevets britanniques N° 780 885, 993 702, 1 302 671, 1 381 184, 1 516 195 et 2 001 334 A. Cependant, bien que des compositions d'aérosols de cette nature puissent contenir certains ingrédients lipidiques, ces ingrédients sont invariablement présents simplement en tant qu'agents de dispersion, de suspension, d'émulsion et analogues. Au surplus, ces compositions sont destinées à produire soit un spray sec, si bien qu'aucune formation liposomique n'est possible, soit comme dans le cas de la crème de base de la description du brevet britannique 780 885, présentées sous forme d'un prémélange émulsionné de n'importe quel lipide et d'eau.

Au surplus, comme décrit dans le mémoire descriptif du brevet des E.U.A. N° 3 594 476, il a été proposé de préparer des aérosols de lécithine, intéressants pour le traitement de troubles pulmonaires, qui peuvent facultativement contenir d'autres agents thérapeutiques, comme des antibiotiques. Suivant le procédé de préparation décrit, on prépare d'abord une suspension de DL-dipalmitoyl- $\alpha$ -lécithine dans de l'eau (ou une solution saline), tout médicament étant dissous dans l'eau ou la solution saline, la suspension étant ensuite nébulisée, c'est-à-dire transformée en un aérosol, dans un générateur à ultrasons alimenté en un courant d'air servant de véhicule ou support. Par conséquent, le procédé décrit repose sur le recours à un équipement à ultrasons relativement coûteux pour produire le mélange final nécessaire de lécithine et d'eau, comme aussi sur l'emploi d'un mélange initial constitué de lécithine en suspension dans de l'eau. De même l'équipement ultrasonique peut être bruyant et ne conviendrait pas, de ce fait, à l'utilisation sur une base générale.

Au surplus, ainsi que le décrit le mémoire descriptif du brevet des E.U.A. 4 371 451, il a été proposé de produire des compositions de démoulage d'ustensiles de cuisson à base de lécithine, constituées d'eau, de lécithine et d'éther diméthylque servant de propulseur. Bien que dans cette description, les solutions soient distribuées à partir d'un récipient à aérosol, ici encore, le procédé décrit repose sur l'emploi d'un mélange initial de lécithine dispersée dans de l'eau. Au surplus, ce que l'on recherche dans ce cas est un séchage rapide et l'obtention d'un mince revêtement de lécithine qui ne mousse pas, plutôt qu'une matière liposomique en tant que telle.

La demanderesse a découvert à présent, non sans surprise, qu'en utilisant un système à aérosol sous pression, une matière liposomique pouvait être formée

de manière extemporanée à partir de composants lipidiques et aqueux séparés et que des matières actives de diverses natures pouvaient être administrées avec un effet amélioré en les dispensant sous forme d'un mélange pulvérisé  
5 avec un véhicule ou support liposomique formé in situ au moment de débiter le mélange de pulvérisation. De même, une telle matière liposomique formée in situ au moment de débiter le mélange de pulvérisation est en soi intéressante, par exemple, pour le traitement de  
10 troubles pulmonaires bien connus des spécialistes.

Par conséquent, la présente invention a pour objet un procédé de préparation de liposomes, procédé qui se caractérise en ce que l'on rassemble sous pression au moins deux constituants séparés, à savoir un premier  
15 constituant formé d'eau et un second constituant formé d'une matière lipidique et en ce que l'on fait passer le mélange sous pression à travers un ajutage ou tout autre dispositif de façon à engendrer un spray du type aérosol contenant des liposomes.

20 Le procédé suivant la présente invention assure la préparation in situ ou extemporanée de liposomes en utilisant un système d'aérosol sous pression. Suivant la présente invention, un premier constituant et un second constituant formés d'une matière lipidique sèche sont  
25 mélangés de façon à obtenir un spray dans lequel les liposomes peuvent être présents tels quels ou sous forme d'un véhicule ou support liposomique pour une ou plusieurs autres matières. Par conséquent, selon une caractéristique préférée de la présente invention, cette dernière a  
30 pour objet un aérosol liposomique comprenant un véhicule ou support liposomique et une matière active séparée qui, en général, est une substance à activité biologique et/ou intéressante pour le traitement ou les soins du corps humain ou animal. Une telle matière active sera

généralement aussi une matière non lipidique, bien que dans certaines circonstances, on puisse utiliser un lipide pour véhiculer ou supporter une partie active, par exemple, qui y est attachée.

5 On peut aussi mettre la présente invention en oeuvre pour préparer et fournir un aérosol liposomique tel quel, c'est-à-dire sans autre matière ou composé actif séparé. De tels aérosols trouvent application de diverses manières, que ce soit pour préparer des liposomes per se destinés à diverses applications ou que ce  
10 soit dans le domaine thérapeutique. Plus particulièrement, ils se révèlent intéressants dans le domaine de la parturition ou des enfants nouveaux-nés soumis à des difficultés respiratoires (syndrome de détresse respira-  
15 toire) peuvent être assistés afin de respirer plus normalement par l'administration d'une matière lipidique à leurs régions bronchiques pour augmenter les faibles taux de surfactif pulmonaire naturellement présent constatés chez ces enfants.

20 De préférence, cependant, on fournit une matière active séparée qui peut initialement être présente dans le premier ou, plus avantageusement, le second constituant. Une telle matière active peut être présente sous la forme d'une suspension, pour ne la citer  
25 qu'en exemple une poudre sèche, dans le premier ou le second constituant, mais se trouve, de préférence, en solution dans l'un des constituants. En utilisant une solution de matière active, il est possible d'éviter une quelconque décantation ou un quelconque dépôt comme ce  
30 serait le cas avec une suspension et toute variation consécutive de la dose administrée due à la décantation ou au dépôt.

35 Dans le procédé suivant la présente invention, l'action de formation et/ou de pulvérisation du mélange conduit à la préparation d'une matière liposomique. Par

conséquent, la demanderesse suppose que lorsque le mélange est formé, il se produit une émulsion comprenant des micelles lipidiques en suspension dans de l'eau, qui engendre ensuite des liposomes lors de la pulvérisation.

5 Au surplus, lorsqu'une matière active est présente, la matière liposomique comprend de la substance active supportée ou véhiculée par un milieu aqueux, soit emprisonnée sous forme encapsulée, entre les couches lipidiques, soit prise en sandwich entre des molécules de lipides. En faisant  
10 varier les conditions dans lesquelles les deux constituants sont mélangés et/ou pulvérisés, on peut faire varier le calibre des liposomes et les proportions relatives de matière active libre et incorporée entre de très larges limites, la limite supérieure allant jusqu'à une  
15 incorporation d'environ 100 %. Ainsi, par exemple, en formant et/ou pulvérisant le mélange d'aérosol sous divers degrés d'activité de mélange, par exemple, comme cela se produit dans des conditions turbulentes créées notamment dans une chambre de mélange et/ou les moyens d'alimentation qui y sont associés et/ou dans un ajutage de pulvérisation, on peut former un spray, soit sous forme d'un  
20 spray possédant une proportion élevée de matière active libre -donnant une action rapide avec une réserve de matière active à libération lente- soit sous forme d'un  
25 spray possédant une faible proportion de matière active libre -donnant une action plus lente avec une libération plus maîtrisée ou réglée et plus prolongée de la matière active. Ainsi, dans le dernier cas, on peut produire une composition comprenant une matière active, dans laquelle  
30 on permet à une proportion élevée de la matière d'être véhiculée sous une forme "protégée" vers l'endroit souhaité de l'action et/ou d'agir autrement d'une manière à libération soutenue du principe actif.

Le procédé selon la présente invention est applicable à la préparation, sous une forme convenant à l'ad-

5 ministration immédiate, de compositions comprenant une large gamme de matières biologiquement actives et/ou de matières intéressantes pour le traitement ou les soins du corps humain ou animal. De manière typique, on peut mettre le procédé suivant l'invention en oeuvre en vue de la préparation de compositions comprenant des composés thérapeutiquement actifs, y compris ceux utilisés pour les traitements appliqués en médecine vétérinaire, tout aussi bien que des réactifs à activité biologique, des 10 matières actives du point de vue cosmétique, des composés possédant une valeur nutritive et d'autres substances employées pour traiter ou soigner le corps humain ou animal.

15 Les matières à activité cosmétique appropriées comprennent des produits destinés aux soins de la peau et aux soins capillaires, par exemple des agents humectants, des agents tannants artificiels (éventuellement en association à des colorants), des agents qui s'opposent aux brûlures solaires, solubles dans l'eau, des antidia- 20 phorétiques, des déodorants, des astringents et des produits de rafraîchissement, de tonification, de cicatrisation, de kératolyse et de dépilation, des eaux parfumées, des extraits de tissus animaux ou végétaux, des colorants capillaires solubles dans l'eau, des agents 25 antipellicules, des agents antiséborrhée, des agents oxydants, par exemple des agents de blanchiment et des agents réducteurs.

30 Les composés à activité thérapeutique que l'on peut mentionner comprennent les vitamines, les stéroïdes, les hormones, les peptides actifs, les enzymes, les vaccins, les agents anti-inflammatoires, les antibiotiques et les bactéricides. Cependant, le procédé suivant la présente invention est tout particulièrement applicable à l'administration de composés thérapeutiquement actifs utilisés en thérapie 35 par inhalation, comme des bronchodilatateurs et des composés anti-asthme, comme aussi des agents antitumoraux.



De tels composés, inclus dans ou avec le véhicule ou support liposomique, sont capables de pénétrer dans l'arbre bronchique, permettant ainsi de modifier avantageusement l'efficacité du traitement thérapeutique. De manière

5  
 similaire, pour le traitement de plaies cutanées ou d'autres traitements dermatologiques, ou pour un traitement cosmétique, on peut utiliser le véhicule ou support liposomique en vue de produire (de manière bénéfique) un effet modifié, par exemple un effet de libération soutenue, permettant ainsi de maintenir un niveau de traitement particulier pendant une plus longue période de temps.

10  
 Conformément à ce qui précède et à titre d'exemple uniquement, on peut mentionner les composés spécifiques et les modes d'administration qui suivent :

15	Composé actif	Classe de composé	Mode d'administration
	Stanozolol	Stéroïde anabolique	Topique
	Hydrocortisone (et ses esters)	Stéroïde anti-inflammatoire	Topique
20	Bêtaméthasone (et ses esters, e.g. son valérate)	Stéroïde anti-inflammatoire	Topique
	Bitoltérol (et ses esters e.g. son mé-sylate)	Catécholamine bronchodilatateur	Inhalation
25	Salbutamol	Catécholamine bronchodilatateur	Inhalation
	Théophylline	Xanthène bronchodilatateur	Inhalation
30	Chromoglycate de sodium	Anti-asthme non stéroïdique	Inhalation
	n-Acétylmuramyl-l-alanyl-d-isoglutamine (dipeptide adjuvant)	Agent activant macrophage (dipeptide anti-tumoral)	Inhalation/intranasale
35	Propranolol	Agent B-bloqueur et contraceptif	Intravaginal

Bien entendu, il sera parfaitement compris des spécialistes de la technique que l'on peut mettre en oeuvre une très large gamme d'autres matières actives, comme aussi d'autres modes d'administration. Par exemple, des compositions produites par mise en oeuvre du procédé suivant la présente invention et contenant des matières actives appropriées, pourraient être administrées directement, c'est-à-dire appliquées à l'oeil ou même administrées par la voie intraveineuse.

Au surplus, on peut faire mention de matières à activité biologique qui peuvent également être thérapeutiquement actives, comme des vaccins, ou d'autres matières à activité biologique intéressante, comme des réactifs, tels que des antigènes et/ou des anticorps, par exemple l'IgG anti-lapin. Les réactifs de cette nature peuvent être intéressants comme marqueurs, plus particulièrement pour tester des échantillons de sang, typiquement en présence ou en l'absence de maladies. La matière liposomique produite conformément à la présente invention peut être une substance qui est chargée positivement ou négativement ou qui est neutre. La matière comprend une substance lipidique particulière, existant en dispersion ou en suspension aqueuse et peut inclure une ou plusieurs autres matières actives. Au surplus, la matière lipidique peut se présenter sous la forme de bi-couches lipidiques unilamellaires et/ou multilamellaires qui peuvent entraîner ou véhiculer en association avec elles, n'importe quelle autre matière active précitée.

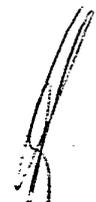
La matière liposomique comprend, de manière typique, un phospholipide et est, de préférence, un phospholipide qui est constitué par une phosphatidyl choline, par exemple la dipalmitoyl phosphatidyl choline, telle quelle ou sous la forme de lécithine; une phosphatidyl éthanolamine; ou une phosphatidyl sérine. La matière liposomique peut être formée à partir d'un phospholipide seul ou ensemble avec du cholestérol et/ou au moins un composé qui

est susceptible de conférer une charge à la matière liposomique. Ainsi, par exemple, une charge peut être conférée à la matière liposomique en utilisant du dicétyl phosphate ou de l'acide phosphatidique, qui peut donner  
5 une matière lipidique négativement chargée, ou de la stéarylamine qui peut donner une matière lipidique positivement chargée.

L'utilisation des matières susmentionnées ainsi que leurs proportions, comme aussi le très large choix de  
10 matières et les variations des proportions que l'on peut mettre en oeuvre, sont bien connus des spécialistes de la technique. Cependant, à titre d'exemple uniquement, selon une forme de réalisation préférée suivant la présente invention, le second constituant peut comprendre  
15 un phospholipide constitué d'une phosphatidyl choline et de cholestérol, typiquement en des proportions molaires relatives d'environ 8 : à partir d'environ 1 à environ 2, par exemple environ 8,5 : 1.

Selon une autre forme de réalisation préférée suivant la présente invention, le second constituant peut  
20 comprendre un phospholipide constitué d'une phosphatidyl choline, de cholestérol et de dicétyl phosphate, typiquement en des proportions molaires relatives d'environ 8 : à partir d'environ 1 à environ 2 : à partir d'environ 1 à environ 0,05, par exemple environ 8,5:1 : à partir  
25 d'environ 0,7 à environ 0,07.

Selon une autre forme de réalisation préférée suivant la présente invention, le second constituant  
30 peut comprendre un phospholipide constitué d'une phosphatidyl choline, de cholestérol et d'acide phosphatidique, typiquement en des proportions molaires relatives d'environ 8 : à partir d'environ 1 à environ 2 : à partir d'environ 1 à environ 0,01, par exemple environ 8,5:1 : environ 0,1.



Selon encore une autre forme de réalisation préférée suivant la présente invention, le second constituant peut comprendre un phospholipide constitué d'une phosphatidyl - choline , de cholestérol et de stéarylamine,

5 typiquement en des proportions molaires relatives d'environ 8 : à partir d'environ 1 à environ 2 : à partir d'environ à environ 0,05, par exemple environ 8,5 : 1 : à environ 0,06.

D'autre part, le second constituant peut aussi  
10 comprendre, par exemple :

un mélange d'une phosphatidyl choline, par exemple la lécithine et de l'acide phosphatidique, par exemple en un rapport d'environ 60 : à environ 1; ou

15 un mélange d'une phosphatidyl choline, par exemple la lécithine et de dicétyl phosphate, par exemple en un rapport d'environ 15 : à environ 1.

La matière liposomique aqueuse produite conformément à la présente invention doit, de préférence, posséder un pH dont la valeur se situe dans la gamme physiologique et, par conséquent, de préférence, dans la  
20 gamme d'environ 6,8 à environ 7,4, plus avantageusement d'environ 7 à environ 7,4. A cette fin, elle peut également contenir un tampon ou un système de tamponnement, en une quantité appropriée à l'établissement et au maintien  
25 de la valeur souhaitée du pH et, à cette fin, convient parfaitement un tampon au phosphate qui peut comprendre, de manière typique, du phosphate dihydrogéné de sodium et du phosphate hydrogéné disodique. Au surplus, un tel tampon peut de préférence être inclus dans le premier  
30 constituant aqueux. Cependant, dans certaines circonstances, par exemple lorsque la matière active comprend un réactif, tel qu'un marqueur d'essai, le pH peut se situer en dehors des limites physiologiques.

En fonction des ingrédients du second constituant, il peut être nécessaire ou préférable d'inclure un véhicule liquide physiologiquement acceptable, de préférence, un liquide dans lequel à la fois la matière lipidique et n'importe quel autre matière active sont solubles. A ce point de vue, les véhicules liquides préférés sont des solvants organiques relativement volatils, par exemple l'éthanol, le chloroforme (sujet à des règles d'emploi locales), l'éther et l'alcool isopropylique.

Au surplus, le premier constituant peut également comprendre un véhicule liquide physiologiquement acceptable, outre l'eau. Un tel véhicule peut être un solvant organique, de préférence, un solvant organique miscible à l'eau, volatil, dont l'éthanol constitue un exemple préféré.

Selon une forme de réalisation préférée de l'invention, on mélange les premier et second constituants sous pression par l'emploi d'un ou plusieurs propulseurs pour aérosols, qui peuvent être un ingrédient de l'un ou de deux constituants et/ou être fournis séparément. De préférence cependant, un propulseur est un ingrédient du second constituant et la pression est appliquée au premier constituant par l'intermédiaire d'un propulseur qui en est maintenu séparé.

De manière typique, le propulseur ou chaque propulseur peut être constitué d'un hydrocarbure ou un hydrocarbure halogéné ou un mélange de tels hydrocarbures. A titre d'exemples de propulseurs de ce genre, on peut citer le propane, le butane, l'éther diméthylque et le propulseur 11 (dichlorofluorométhane), bien que le dichlorodifluorométhane ou le dichlorotétrafluoréthane ou leurs mélanges soient préférés. Le propulseur peut

être un composé considéré comme étant un propulseur à basse pression, développant des pressions allant jusqu'à environ 1,72 à environ 2,07 bars, comme un mélange 20 : 80 p/p de dichlorodifluorométhane et de dichlorotétrafluoro-  
5 éthane, ou bien le propulseur peut être un propulseur à pression relativement élevée, développant des pressions allant jusqu'à environ 4,83 bars, comme un mélange 80 : 20 p/p de dichlorodifluorométhane et de dichlorotétrafluoro-  
méthane. Il faut bien évidemment comprendre que les taux  
10 de dosage relatifs, comme entre les constituants, peuvent être réglés et être amenés à varier, entre autres, en fonction de la pression de propulseur utilisée pour chaque constituant.

15 Dans le procédé conforme à la présente invention, il est préférable que les premier et second constituants soient chacun amenés isolément par rapport à l'autre, que chacun des constituants soit amené en doses dis-  
tinctes réglées dans une chambre de mélange sous leur  
20 propre pression de propulseur et que le mélange ainsi engendré soit débité à partir de la chambre de mélange à travers un orifice sous la pression provenant d'au moins l'un des propulseurs précités. De préférence également, le premier et le second constituants sont mélangés  
25 en manière telle que l'on débite une dose mesurée de n'importe quelle matière active précitée.

Plus avantageusement encore, le second constituant est amené sous forme de dose mesurée à une dose mesurée du premier constituant et est, de préférence, mis en  
30 contact avec au moins la plus grosse part du premier constituant en de multiples endroits dans ladite dose mesurée. ainsi, plus spécialement, le procédé selon l'invention se caractérise des plus avantageusement par la suite des étapes opératoires qui suivent, à savoir:

le premier constituant est amené dans une chambre de mélange en une quantité dosée;

5 une quantité dosée du second constituant est amenée dans la chambre de mélange de manière à engendrer un mélange turbulent de deux constituants, de préférence en amenant le second constituant dans la chambre de mélange en une multiplicité d'endroits; et

le mélange est déchargé de la chambre de mélange.

10 Commodément, la quantité dosée du premier constituant est réglée en amenant le premier constituant dans la chambre de mélange en une quantité telle qu'elle remplisse la chambre et en choisissant le volume de la chambre de façon à obtenir la quantité dosée souhaitée du premier constituant.

15 La présente invention concerne également un emballage à utiliser pour la préparation d'un aérosol liposomique, lequel emballage comprend au moins une première et une seconde chambres, une chambre contenant un premier constituant comprenant de l'eau, qui peut être une matière aqueuse tamponnée et l'autre chambre contenant un  
20 second constituant comprenant une matière lipidique, l'un des constituants incluant facultativement, de préférence en suspension ou en solution dans ce constituant, une matière active précitée, par exemple, pour l'utili-  
25 sation en vue du traitement ou des soins du corps humain ou animal et l'une des ou les deux chambres, et/ou une troisième chambre, comprenant une matière servant de propulseur, l'emballage étant pourvu d'un agencement pour débiter, sous la forme d'un spray, un mélange des premiers  
30 et second constituants débités depuis leurs chambres respectives, sous l'effet de la pression développée par la ou les matières servant de propulseurs.



De préférence, l'agencement distributeur ou de débit est tel que le rapport de mélange des constituants soit réglé (c'est-à-dire amené à un niveau mesuré ou dans une étroite plage mesurée de rapports), si bien que la dose mesurée souhaitée de n'importe quelle matière active précitée puisse être débitée.

Une fois encore, il est préférable que la matière active soit en suspension ou en solution dans le second constituant comprenant une matière lipidique et, plus avantageusement, le composé actif doit être en solution, afin d'éviter une décantation ou un dépôt. En général, la matière active, le premier et le second constituant et le propulseur sont tels que décrits plus haut à propos du procédé suivant l'invention.

De préférence, l'emballage conforme à la présente invention comprend un orifice de décharge et une chambre de mélange et un dispositif à soupape pour permettre aux premier et second constituants précités d'être débités depuis leurs chambres respectives sous l'effet de la pression développée par un ou plusieurs propulseurs dans la chambre de mélange et de régler le rapport des constituants (c'est-à-dire à un niveau mesuré ou dans une étroite plage mesurée de rapports), de façon que la dose mesurée souhaitée de mélange, c'est-à-dire la matière active plus le véhicule ou support liposomique ou le liposome per se, puisse être débitée à travers l'orifice de décharge.

De préférence, ledit dispositif à soupape comprend un agencement (à savoir deux valves ou soupapes) qui permettent, en série, de débiter le premier constituant dans la chambre de mélange de façon à remplir la chambre, de débiter une dose mesurée du second constituant dans la chambre de mélange, de manière à engendrer un mélange turbulent des deux constituants et de décharger le mélange à travers l'orifice de décharge. De préférence également, le dispositif à soupape comprend un agencement pour per-

mettre de débiter le second constituant dans la chambre de mélange à plusieurs endroits dans la chambre.

Si on le souhaite, des moyens de mélange supplémentaires peuvent également être prévus, que ce soit en  
 5 amont ou en aval de la chambre de mélange, pour créer des conditions de mélange intime et/ou turbulent supplémentaires, de façon à promouvoir la formation liposomique préalablement à la décharge à travers l'orifice de décharge. Ainsi, par exemple, l'agencement de l'ori-  
 10 fice de décharge peut, lui-même, comprendre une chambre de mélange secondaire dans laquelle on amène le mélange de façon à créer des conditions de turbulence, par exemple, en l'introduisant tangentiellement dans la chambre par l'intermédiaire d'une ou plusieurs entées avant la,  
 15 décharge.

Dans l'emballage suivant la présente invention, la première chambre peut être un premier sac ou boîte pour aérosol, la seconde chambre peut être un second sac ou boîte pour aérosol et les boîtes ou autres premières et secondes chambres fermées peuvent être agencées :

20 bout à bout avec dispositif à soupape respectif et la chambre de mélange disposés, entre ou au-dessus des boîtes ou autres chambres;

côte à côte avec le dispositif à soupape respectif  
 25 ~~et la~~ chambre de mélange disposés entre ou au-dessus des boîtes ou autres chambres; ou

la première dans la seconde (ou vice-versa) avec le dispositif à soupape et la chambre de mélange disposés dans ou au-dessus de la boîte ou autre chambre externe. Des récipients pour aérosols utilisant ce type  
 30 d'agencement sont décrits par exemple, dans les mémoires descriptifs des brevets des E.U.A. N° 3 325 056 et 3 326 416.



Dans l'emballage suivant la présente invention, peut être prévu un boîtier externe, par exemple une boîte en fer blanc, dans lequel les chambres fermées peuvent être disposées et à travers lequel le dispositif à soupape peut être mis en fonctionnement. Dans un tel emballage, il est préférable que le second constituant inclue un propulseur et soit disposé dans une chambre fermée interne à parois rigides, le second constituant soit disposé dans une chambre fermée externe à parois souples, enveloppant de préférence la chambre interne, le boîtier soit un boîtier à parois rigides et l'espace entre la chambre fermée externe et le boîtier enveloppant inclue un propulseur. Un agencement particulièrement préféré d'un emballage à deux constituants pour parvenir à ces caractéristiques est celui décrit dans la demande de brevet européen N° 84-10-4589.1 , basée sur la demande de brevet suisse 4450/83, déposée le 16 août 1983. Cependant, si on le souhaite, l'agencement de la chambre interne peut être le même que l'agencement de la chambre externe, c'est-à-dire un agencement conformément auquel la chambre interne est réalisée sous forme de chambre à parois souples, entourée d'une chambre à parois rigides contenant un propulseur.

Ainsi qu'on le comprendra parfaitement à la lecture de la description qui suit, lors de la mise en pratique de la présente invention, la dose de la matière active débitée au cours de chaque fonctionnement de l'emballage

peut être amenée à varier fortement en fonction de toute une série de facteurs, parmi lesquels on peut plus particulièrement citer :

- 5 1. la concentration de la matière active dans le premier et/ou le second constituants; et
2. le rapport de mélange des premier et second constituants.

10 Dans le cas du rapport de mélange des constituants, celui-ci dépend de l'ampleur des quantités dosées du premier et du second constituants débités pour le mélange, qui dépend, à son tour, des dispositifs de mélange et/ou à soupape particuliers mis en oeuvre. Dans le cas particulier de

15 l'agencement spécialement préféré mentionné plus haut, la chambre de mélange possède, de préférence, un volume d'environ 50 à environ 100, par exemple 75 à 100, microlitres et la soupape qui règle la dose du second constituant en débite, de préférence, d'environ 50 à environ 100 microlitres dans la chambre de mélange par mise en

20 fonctionnement. Dans le cas du calibre des liposomes, la demanderesse suppose que celui-ci est réglé principalement par la pression engendrée par le propulseur ou les propulseurs et/ou par la viscosité des constituants. De manière générale, plus les constituants sont vigou-

25 reusement mélangés, plus faible sera le calibre des liposomes. Le calibre de l'orifice de décharge ou de distribution de la soupape que l'on utilise pour débiter les constituants mélangés peut également affecter le calibre des liposomes produits et, de préférence ,

30 un tel orifice de décharge possède un calibre d'environ 350 à environ 450 microns.



D'autre part, une fois que les paramètres susmentionnés ont été fixés, on peut aisément assurer la proportion de dosage qui en résulte, tout comme on peut déterminer le degré d'incorporation de n'importe quelle matière active, ainsi que le calibre des liposomes produits.

5 Ainsi que les personnes familières avec la mise en composition de matières actives avec des substances servant de supports ou de véhicules le comprendront parfaitement, conformément à la présente invention, la proportion d'incorporation de la matière active dans  
10 le véhicule ou support liposomique peut avoir un effet prononcé sur le niveau de la dose de base choisi pour la composition globale. Par conséquent, un tel niveau de dose de base sera une question de choix de composition ou de formulation dépendant des critères envisagés  
15 auxquels une quelconque composition doit répondre.

La présente invention concerne, au surplus, une matière liposomique ou une composition liposomique, lorsqu'elle est préparée sous la forme d'un spray, par  
20 mise en oeuvre d'un procédé tel que décrit dans le présent mémoire ou par l'utilisation d'un emballage tel que décrit dans le présent mémoire.

Les exemples qui suivent illustrent le procédé et l'emballage pour aérosols suivant la présente invention.

25 Dans les exemples spécifiques donnés, la plupart des compositions comprennent du molybdate d'ammonium à titre de matière dense sur le plan des électrons, qui fut simplement incorporé à titre de marqueur pour faciliter la détection des liposomes et la mesure de leur diamètre en utilisant  
30 un microscope électronique. Les personnes familières avec les compositions pharmaceutiques comprendront bien évidemment que le molybdate d'ammonium qui est modérément toxique, ne peut faire partie d'une composition de mise en oeuvre réelle destinée à être administrée à un  
35 patient. Ainsi que le permet d'établir une comparaison, par exemple de l'exemple 19 et de l'exemple 20 qui sui-

vent, l'omission du molybdate d'ammonium n'a pas d'effet nuisible sur le taux d'incorporation d'ingrédient actif et, en fait, le taux d'incorporation est même légèrement supérieur dans l'exemple 20. Par conséquent, dans n'im-  
 5 porte lesquelles des compositions illustrées dans les exemples, le marqueur au molybdate peut être omis sans effet préjudiciable et les résultats indiqués peuvent être obtenus en son absence.

De même, bien que diverses proportions d'ingrédients  
 10 actifs soient indiquées dans les exemples et bien que celles-ci, à leur tour, donnent diverses proportions d'ingrédients actifs libres et incorporés par fonctionnement, ici encore, le spécialiste de ce genre de compositions  
 15 comprendra facilement que la proportion de la dose et la nature de la composition choisies pour n'importe quel emballage de mise en oeuvre particulier dépendront du régime de dosage particulier auquel on souhaite parvenir, comme aussi de n'importe quel équilibre nécessaire ou  
 20 souhaité entre une matière active non incorporée et incorporée.

Par exemple, en présumant qu'une personne moyenne applique en moyenne une composition de crème sur sa peau à la dose de  $2,2 \text{ mg/cm}^2$  et, dans la supposi-  
 25 tion qu'un fonctionnement unique de l'aérosol ou "coup" couvre  $25 \text{ cm}^2$  de peau, on peut établir la comparaison suivante entre les compositions illustrées et standard :

	Composition	Dose appliquée (microgrammes/ $\text{cm}^2$ )
30	Crème de stanozolol (0,1 %)	2,3
	Aérosol de stanozolol de l'exemple 21	4,0
	Crème d'hydrocortisone (1,0 %)	23
	Aérosol d'hydrocortisone de l'exemple 25	4,8
	Crème de bétaméthasone (0,1 %)	2,5
35	Aérosol de bétaméthasone de l'exemple 27	0,64

Ainsi, la matière active peut être débitée en une dose globale supérieure ou inférieure (ou même à) la dose standard connue, de façon à obtenir toute variation souhaitée de l'effet, cette variété de l'effet étant augmentée par le degré d'incorporation choisi. De manière similaire, dans le cas de compositions destinées à l'inhalation, la dose globale peut varier en fonction de l'effet recherché. Ainsi, par exemple, ainsi que l'exemple 31 l'illustre, le salbutamol peut être débité par mise en action, effectivement sous forme de 125 microgrammes de matière à libération lente et de 125 microgrammes de matière libre que l'on peut comparer aux 100 microgrammes par mise en action à partir d'un distributeur standard. Au surplus, ainsi que les exemples 29 et 30 l'illustrent respectivement, la matière active peut être administrée en des doses bien supérieures ou bien inférieures par mise en action que dans le cas du distributeur standard -c'est-à-dire 933 microgrammes vis-à-vis de 200 microgrammes (standard) dans le cas du bitoltérol de l'exemple 29 et 200 microgrammes vis-à-vis de 2 mg (standard) dans le cas du chromoglycate de sodium de l'exemple 30- bien que, dans les deux cas, la dose puisse être ajustée à la dose standard, en modifiant la quantité globale de matière active supportée ou véhiculée par le second ou le premier constituant respectivement.

#### EXEMPLE 1

On a dissous 240 mg de lécithine d'oeuf et 28 mg de cholestérol dans 4 ml d'éthanol et on a ajouté la solution ainsi obtenue à 25 g d'un mélange 20 : 80 p/p de dichlorodifluorométhane et de dichlorotétrafluoréthane servant de propulseur. On a ensuite enfermé hermétiquement le mélange dans un premier récipient muni d'une soupape. On a introduit 25 ml d'une solution aqueuse de phosphate de sodium 3,3 mM, pH 7,2, dans un sac en aluminium qui fut ensuite hermétiquement enfermé

dans un récipient séparé équipé d'une soupape et contenant 25 g du propulseur précité. On a raccordé les récipients par l'intermédiaire d'une chambre de mélange et chaque mise en action du mécanisme à soupape libéra  
5 une fraction aliquote de la solution lipidique et une fraction aliquote de la solution de phosphate dans la chambre de mélange et ensuite dans l'atmosphère interne en passant par un étroit orifice. L'aérosol ainsi obtenu  
10 contenait des liposomes multilamellaires et unilamellaires possédant un diamètre moyen de 40 nm à 1000 nm.

### EXEMPLE 2

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 1, si ce n'est que le premier récipient muni d'une soupape  
15 contenait un mélange de 240 mg de lécithine d'oeuf, de 28 mg de cholestérol et de 4 mg d'acide phosphatidique dissous dans 4 ml d'éthanol, en même temps que 25 g d'un mélange 40 : 60 p/p de dichlorodifluorométhane et de dichlorotétrafluorométhane servant de propulseur.

On a pu utiliser l'agencement ainsi obtenu pour  
20 produire un aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires chargés négativement avec un diamètre moyen de 40 nm à 1000 nm.

### EXEMPLE 3

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple  
25 1, à l'exception que le premier récipient muni d'une soupape contenait un mélange de 240 mg de lécithine d'oeuf, de 28 mg de cholestérol et de 1,6 g de stérolamine en solution dans 4 ml d'éthanol, en même temps que 25 g d'un mélange 20 : 80 p/p de dichlorodifluorométhane et de dichlorotétrafluorométhane servant de  
30 propulseur.

L'agencement ainsi obtenu put être utilisé pour  
35 produire un aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires chargés positivement avec un diamètre moyen de 40 nm à 1000 nm.

EXEMPLE 4

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 1, si ce n'est que le premier récipient muni d'une soupape contenait un mélange de 240 mg de lécithine d'oeuf et de  
5 4 mg d'acide phosphatidique en solution dans 4 ml d'éthanol, en même temps que 25 g d'un mélange 20 : 80 p/p de dichlorodifluorométhane et de dichlorotétrafluoréthane servant d'agent propulseur.

L'agencement ainsi obtenu put être utilisé pour  
10 produire un aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires chargés négativement avec un diamètre moyen de 40 nm à 1000 nm.

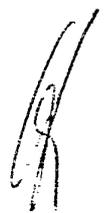
EXEMPLE 5

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 1,  
15 à l'exception que le premier récipient équipé d'une soupape contenait un mélange de 24 mg de dipalmitoylphosphatidyl choline, de 2,8 mg de cholestérol, de 2 mg de dicétylphosphate et de 2 mg de bitoltérolmésylate en solution dans 4 ml d'éthanol, en même temps que 25g d'un  
20 mélange 40 : 60 p/p de dichlorodifluorométhane et de dichlorotétrafluoréthane servant de propulseur.

L'agencement ainsi obtenu put être utilisé pour  
produire un aérosol qui contenait des liposomes unilamel-  
laires et multilamellaires chargés négativement avec un  
25 diamètre moyen de 40 nm à 1000 nm. Au surplus, plus de 50 % du bitoltérolmésylate furent incorporés aux liposomes.

EXEMPLE 6

On a répété le procédé décrit à l'exemple 1, si ce  
30 n'est que le premier récipient équipé d'une soupape contenait un mélange de 240 mg de lécithine d'oeuf, de 28 mg de cholestérol, de 2 mg de dicétylphosphate et



de 20 mg de bitoltérolmésylate en solution dans 4 ml d'éthanol, en même temps que 25 g d'un mélange 40 : 60 p/p de dichlorodifluorométhane et de dichlorotétrafluoréthane servant d'agent propulseur.

5 L'agencement ainsi obtenu put être utilisé pour produire un aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires possédant un diamètre de 40 nm à 1000 nm. En outre, plus de 50 % de bitoltérolmésylate furent incorporés aux liposomes.

10 EXEMPLE 7

On a dissous 50 mg de lécithine d'oeuf dans de l'alcool éthylique (96 % BP) (BP = pharmacopée britannique) et on a amené le volume à 1,0 ml à l'aide d'alcool éthylique de façon à obtenir un constituant lipidique.

15 On a transféré la solution ainsi obtenue dans un récipient en verre et on y a ensuite ajouté 7,0 g de dichlorodifluorométhane. On a alors hermétiquement fermé le récipient en verre avec une soupape mesurant des doses de 65 microlitres, associée à une chambre de mélange de 20 75 microlitres, agencée pour recevoir le constituant lipidique déchargé à travers la soupape doseuse et faisant elle-même partie d'un second système à soupape.

On a placé l'ensemble ainsi formé dans un second récipient souple (un sac tubulaire) contenant 40 ml 25 d'une solution de molybdate d'ammonium (0,5 % p/v dans de l'eau désionisée) de façon à obtenir un constituant aqueux, ce constituant étant en communication avec la chambre de mélange, la seconde soupape se trouvant dans sa position fermée. On a ensuite serti le second récipient dans une boîte contenant 2,0 g de dichlorodifluoro- 30 méthane servant de propulseur, en manière telle que le second système à soupape, associé au sac et à la chambre



de mélange, put, lorsqu'il fut lui-même mis en action, également faire fonctionner la première soupape en vue de décharger le constituant lipidique dans la chambre de mélange et a ainsi obtenu une décharge des constituants mélangés à partir de l'ensemble à boîte d'aérosol global, par exemple de la manière décrite dans la demande de brevet suisse susmentionnée N° 4450/83. On a ensuite équipé le second système à soupape d'un bouton d'actionnement standard avec un orifice de 450 microns.

L'ensemble à boîte d'aérosol ainsi obtenu put être utilisé pour produire un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 40 nm à 400 nm.

#### 15 EXEMPLE 8

On a répété le procédé décrit à l'exemple 7, si ce n'est que le récipient de verre fut équipé d'une soupape débitant des doses de 50 microlitres, associée à une chambre de mélange de 100 microlitres. L'ensemble à boîte d'aérosol ainsi obtenu put être utilisé pour produire un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires ayant des diamètres de 40 nm à 1000 nm.

#### EXEMPLE 9

25 On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 7, sauf que l'on a équipé le récipient en verre d'une valve débitant des doses de 100 microlitres, associée à une chambre de mélange de 100 microlitres. L'ensemble à  
30 boîte d'aérosol ainsi obtenu put être utilisé pour produire un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 50 nm à 1000 nm.



EXEMPLE 10

On a dissous 60,0 mg de lécithine d'oeuf et 7,0 mg de cholestérol dans 1,0 ml d'alcool éthylique (96 % BP). On a transféré la solution ainsi obtenue dans un réci-  
5 pient en verre et on y a ajouté 6,0 g d'un mélange  
20 : 80 p/p de dichlorodifluorométhane et de dichloro-  
tétrafluoréthane. On a ensuite hermétiquement fermé le  
récipient en verre avec une soupape débitant des doses  
de 50 microlitres, associée à une chambre de mélange de  
10 100 microlitres, de la manière décrite à l'exemple 7.

On a placé l'ensemble ainsi formé dans un second  
récipient souple contenant 40 ml d'une solution aqueuse  
de phosphate de sodium 3,3 mM, possédant un pH de 7,0.  
Ici encore, comme à l'exemple 7, on a ensuite serti le  
15 second récipient dans une boîte pour aérosol, contenant  
2,0 g de dichlorodifluorométhane servant de propulseur,  
en manière telle que le second système à soupape pût  
assurer la décharge à partir de l'ensemble à boîte pour  
aérosol global. On a équipé le second système à soupape  
20 d'un bouton d'actionnement standard avec un orifice de  
450 microns.

L'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu put  
être utilisé pour engendrer un spray d'aérosol qui conte-  
nait des liposomes unilamellaires et multilamellaires  
25 avec des diamètres de 40 nm à 1000 nm.

EXEMPLES 11 à 15

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple  
10, en utilisant dans le récipient de verre, une solution  
des ingrédients qui suivent, dissous dans 1,0 ml d'alcool  
30 éthylique (96 % BP), à savoir :



Exemples n°

11. 60,0 mg de lécithine d'oeuf, 1,0 mg d'acide phosphatidique et 7,0 mg de cholestérol.

5 12. 60,0 mg de lécithine d'oeuf, 0,4 mg de stéarylamine et 7,0 mg de cholestérol.

13. 60,0 mg de lécithine d'oeuf et 1,0 mg d'acide phosphatidique.

10 14. 0,5 mg de bitoltérolmésylate, 6,0 mg de palmitoyl phosphatidyl choline, 0,5 mg de dicétylphosphate et 0,7 mg de cholestérol.

15 15. 5,0 mg de bitoltérolmésylate, 60,0 mg de lécithine d'oeuf, 0,5 mg de dicétylphosphate et 7,0 mg de cholestérol.

On a pu utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu dans chacun des exemples 11 à 15 en vue de produire un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 40 nm à 1000 nm.

EXEMPLE 16

20 On a dissous 100 mg de lécithine d'oeuf et 6,0 mg de stanozolol dans de l'alcool éthylique (96 % BP) et on a amené le volumé à 2,0 ml à l'aide d'alcool éthylique. On a transféré la solution ainsi obtenue dans un récipient en verre et on y a ajouté 9,0 g de dichlorodifluorométhane.

25 On a ensuite hermétiquement fermé le récipient en verre avec une soupape débitant des doses de 50 microlitres, associée à une chambre de mélange de 100 microlitres, comme décrit à l'exemple 7.

30 On a placé l'ensemble ainsi formé dans un second récipient souple, contenant 40 ml d'une solution de molybdate d'ammonium (0,5 % p/p dans de l'eau désionisée).

On a à nouveau, comme décrit à l'exemple 7, serti le second récipient dans une boîte pour aérosol contenant 2,0 g de dichlorodifluorométhane servant de propulseur, en manière telle que le second système à soupape pût  
5 assurer la décharge depuis l'ensemble à boîte pour aérosol global. On a ensuite équipé le second système à soupape d'un bouton d'actionnement standard avec un orifice de 450 microns.

On put utiliser l'ensemble a boîte pour aérosol ainsi obtenu pour produire un spray d'aérosol qui conte-  
10 nait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 40 nm à 110 nm. Des 50,0 microgrammes de stanozolol libérés à chaque mise en action du second système à soupape, une quantité de 21,6 microgrammes se révéla être associée aux liposomes.  
15

#### EXEMPLE 17

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 16, sauf que la solution introduite dans le récipient en verre était constituée de 450 mg de lécithine d'oeuf et de 160 mg  
20 de stanozolol en solution dans de l'alcool éthylique (96 % BP), le volume ayant été complété jusqu'à 3,0 ml par de l'alcool éthylique, que l'on a ajouté 4,5 g de dichlorodifluorométhane au récipient et que le bouton d'actionnement avait un orifice de 360 microns.

L'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu put être utilisé pour engendrer un spray d'aérosol qui conte-  
25 nait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 44 nm à 440 nm. Des 500,0 microgrammes de stanozolol libérés à chaque fonctionnement du second système à soupape, une quantité de 35,4 microgrammes  
30 se révéla être associée aux liposomes.

EXEMPLE 18

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 17, à l'exception que la soupape doseuse était une soupape débitant des doses de 100 microlitres et que le bouton d'actionnement avait un orifice de 450 microns.

On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu pour engendrer un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 25 nm à 190 nm. Des 1000,0 microgrammes de stanozolol libérés à chaque fonctionnement du second système à soupape, une quantité de 170,5 microgrammes se révéla être associée aux liposomes.

EXEMPLE 19

On a répété le procédé décrit à l'exemple 16, sauf que la solution introduite dans le récipient de verre était formée de 90 mg de lécithine d'oeuf et de 60 mg de stanozolol dissous dans de l'alcool éthylique (96 % BP), le volume étant complété jusqu'à 3,0 ml avec de l'alcool éthylique et que l'on ajouta 4,5 g de dichlorodifluorométhane au récipient.

On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu en vue d'engendrer un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 40 nm à 350 nm. Des 500,0 microgrammes de stanozolol libérés à chaque fonctionnement du second système à soupape, une quantité de 81,3 microgrammes se révéla être associée aux liposomes.

EXEMPLE 20

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 19, sauf que le second récipient ne contenait que 40 ml d'eau désionisée.

Des 500 microgrammes de stanozolol libérés à chaque fonctionnement du second système à soupape, une

quantité de 85,0 microgrammes se révéla être associée aux liposomes.

EXEMPLE 21

5 On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 20, sauf que la solution introduite dans le récipient en verre contenait 12 mg de stanozolol.

10 On put utiliser l'ensemble de boîtes pour aérosol ainsi obtenu en vue d'engendrer un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 40 nm à 350 nm. Des 100 microgrammes de stanozolol libérés à chaque fonctionnement du second système à soupape, une quantité de 76,8 microgrammes se révéla être associée aux liposomes.

EXEMPLE 22

15 On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 21, sauf que le second récipient contenait 40 ml d'une solution d'alcool éthylique (1 % v/v) dans de l'eau désionisée.

20 On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu en vue d'engendrer un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 30 nm à 500 nm. Des 100 microgrammes de stanozolol libérés à chaque fonctionnement du second système à soupape, une quantité de 25 77,3 microgrammes se révéla être associée aux liposomes.

EXEMPLE 23

30 On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 21, sauf que le second récipient contenait 40 ml d'une solution d'alcool éthylique (5 % v/v) dans de l'eau désionisée.

On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu en vue de produire un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 30 nm à 500 nm. Des 100  
5 microgrammes de stanozolol livrés à chaque fonctionnement du système à soupape, une quantité de 76,3 microgrammes se révéla être associée aux liposomes.

#### EXEMPLE 24

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple  
10 21, sauf que le second récipient contenait 40 ml d'une solution d'alcool éthylique (10 % v/v dans de l'eau désionisée).

On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu en vue d'engendrer un spray d'aérosol qui  
15 contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 30 nm à 50 nm. Des 100 microgrammes de stanozolol libérés à chaque fonctionnement du système, une quantité de 66,6 microgrammes se révéla être associée aux liposomes.

#### EXEMPLE 25

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple  
20 17, sauf que la solution introduite dans le récipient de verre était constituée de 900 mg de lécithine d'oeuf et de 14,4 mg d'hydrocortisone BP en solution dans de  
25 l'alcool éthylique (96 % BP), le volume étant complété jusqu'à 3,0 ml avec de l'alcool éthylique.

L'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu put être utilisé pour produire un spray d'aérosol qui conte-  
30 nait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 44 nm à 220 nm. Des 120 microgrammes de l'hydrocortisone BP libérés à chaque fonctionnement du second système à soupape, une quantité



de 54,0 microgrammes se révéla être associée aux liposomes.

EXEMPLE 26

5 On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple  
16, sauf que la solution introduite dans le récipient  
de verre était constituée de 841 mg de lécithine d'oeuf,  
de 54,8 mg de dicétylphosphate et de 14,4 mg d'hydro-  
cortisone BP en solution dans de l'alcool éthylique (96 %  
BP), le volume étant complété jusqu'à raison de 3,0 ml  
avec de l'alcool éthylique et que l'on ajouta 4,5 g de  
10 dichlorodifluorométhane au récipient.

Des 120 microgrammes d'hydrocortisone BP libérés à  
chaque fonctionnement du second système à soupape, une  
quantité de 45,6 microgrammes se révéla être associée aux  
liposomes.

15 On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple  
26, sauf que la solution introduite dans le récipient en  
verre était constituée de 841 mg de lécithine d'oeuf et  
de 4,8 mg de bêtaméthasone valérate BP/USP/NF (USP = phar-  
macopée des Etats-Unis d'Amérique, NF = nouveau formulaire)  
20 en solution dans de l'alcool éthylique (96 % BP), le volume  
étant amené à 3,0 ml avec de l'alcool éthylique.

On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi  
obtenu en vue d'engendrer un spray d'aérosol qui conte-  
nait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec  
25 des diamètres de 20 nm à 300 nm. En outre, 16 microgram-  
mes de bêtaméthasone valérate furent libérés à chaque  
fonctionnement du second système à soupape.

EXEMPLE 28

30 On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple  
27, sauf que l'on a omis la bêtaméthasone de la solution  
introduite dans le récipient en verre.

On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol  
ainsi obtenu en vue d'engendrer un spray d'aérosol qui



contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 30 nm à 1000 nm.

EXEMPLE 29

5 On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 26, sauf que la solution introduite dans le récipient en verre était constituée de 141 mg de lécithine d'oeuf et de 112 mg de bitoltérolmésylate en solution dans de l'alcool éthylique (96 % BP), le volume étant amené à 3,0 ml avec de l'alcool éthylique.

10 On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu en vue de produire un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 25 nm à 250 nm. Des 933 microgrammes de bitoltérolmésylate libérés à chaque  
15 fonctionnement du second système à soupape, une quantité de 545 microgrammes se révéla être associée aux liposomes.

EXEMPLE 30

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 28, à l'exception que le second récipient contenait  
20 40 ml d'une solution de chromoglycate de sodium USP XX, BP '80 (2 mg/ml) et du molybdate d'ammonium (5 mg/ml) dans un tampon au phosphate de sodium 0,1 M à un pH de  
7,4.

25 On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu en vue d'engendrer un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 35 nm à 700 nm. Des 200 microgrammes de chromoglycate de sodium libérés à chaque fonctionnement du système, une quantité de 22 microgrammes se  
30 révéla être associée aux liposomes.



EXEMPLE 31

On a répété le procédé décrit à l'exemple 18, sauf que les 60 mg de stanozolol furent remplacés par 15 mg de salbutamol base BP.

5 On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu en vue de produire un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires avec des diamètres de 30 nm à 300 nm. Des 250 microgrammes de salbutamol libérés à chaque fonctionnement du second système à soupape, une quantité de 125 microgrammes se révéla être associée aux liposomes.

EXEMPLE 32

On a répété le mode opératoire décrit à l'exemple 28, sauf que le second récipient contenait 10 ml d'une solution de N-acétylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine [NALAG] (100 microgrammes/ml) et du molybdate d'ammonium (5 mg/ml) dans de l'eau désionisée.

15 On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu en vue d'engendrer un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires. 20 En outre, 10 microgrammes de NALAG furent libérés à chaque fonctionnement du second système à soupape.

EXEMPLE 33

On a dissous 841 mg de lécithine d'oeuf dans de l'alcool éthylique (96 % BP) et on amené le volume à 3,0 ml avec de l'alcool éthylique. On a transféré la solution ainsi obtenue dans un récipient en verre et on y a ensuite ajouté 4,5 g de 4-dichlorodifluorométhane. On a ensuite hermétiquement fermé le récipient en verre avec une soupape débitant des doses de 50 microlitres, associée à une chambre de mélange de 100 microlitres, comme décrit à l'exemple 7.

On a introduit l'ensemble ainsi formé dans un second récipient souple contenant 35 ml d'une dilution (50 microlitres/ml) d'IgG anti-lapin (titre 1/64 vis-à-vis de sérum de lapin normal 1/640 comme déterminé par titrage à la précipitation sur bloc de gélose) et du molybdate d'ammonium (5 mg/ml) dans de l'eau désionisée. Ici encore, comme décrit à l'exemple 7, on a ensuite serti le second récipient dans une boîte contenant 2,0 g de dichlorodifluorométhane servant de propulseur en manière telle qu'un second système à soupape pût assurer la décharge à partir de l'ensemble à boîte pour aérosol global. On a ensuite équipé le second système à soupape d'un bouton d'actionnement standard avec un orifice de 450 microns.

On put utiliser l'ensemble à boîte pour aérosol ainsi obtenu pour engendrer un spray d'aérosol qui contenait des liposomes unilamellaires et multilamellaires. 5 microlitres d'IgG anti-lapin (titre 1/64) furent libérer à chaque fonctionnement du second système à soupape.

Il faut bien comprendre que l'invention ne se limite nullement aux détails décrits dans les exemples spécifiques susmentionnés. Ainsi, par exemple, toute une série d'autres matières lipidiques peut être utilisée pour former la matière liposomique et on peut véhiculer ou supporter à l'aide de cette dernière une très large gamme de substances actives. De même, on peut utiliser un grand nombre d'autres agencements d'aérosols, plus particulièrement l'un des autres agencements spécifiques décrits plus haut. Au surplus, la pression nécessaire peut être engendrée par des moyens autres que l'emploi d'un ou plusieurs propulseurs pour aérosols.



5 Dans l'ensemble, ainsi que cela sortira clairement de la description qui précède, dans sa globalité, l'invention concerne n'importe quel procédé pour la préparation in situ de liposomes en utilisant un système d'aérosol sous pression, que les liposomes comprennent ou non, ou se trouvent ou non avec, un constituant actif séparé ainsi qu'un emballage à utiliser pour une telle préparation.



REVENDEICATIONS

1. Procédé de préparation de liposomes à partir d'une matière lipidique et d'eau, caractérisé en ce que l'on rassemble sous pression au moins deux constituants séparés, un premier constituant comprenant de l'eau et un second constituant comprenant une matière lipidique et en ce qu'on fait passer le mélange sous pression à travers un ajutage ou tout autre agencement de façon à engendrer un spray d'aérosol contenant des liposomes.

2. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce qu'au moins l'un desdits premier et second constituants comprend une matière active qui présente une activité biologique et/ou est intéressante pour le traitement ou les soins du corps humain ou animal.

3. Procédé suivant la revendication 2, caractérisé en ce que la matière lipidique se trouve en solution dans le premier ou dans le second constituant.

4. Procédé suivant l'une quelconque des revendications 2 et 3, caractérisé en ce que la matière active présente un intérêt thérapeutique ou cosmétique.

5. Procédé suivant la revendication 4, caractérisé en ce que la matière active est un bronchodilatateur, un composé anti-asthme, un agent anti-tumoral, un agent anti-inflammatoire, un agent contraceptif ou un stéroïde anabolique.

6. Procédé suivant l'une quelconque des revendications 2 et 3, caractérisé en ce que la matière active est un antigène, un anticorps ou un autre réactif biologiquement actif.

7. Procédé suivant l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que la matière

lipidique du second constituant est une substance phospholipidique choisie de façon à donner un liposome positivement chargé, négativement chargé ou neutre.

5 8. Procédé suivant l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le second constituant comprend un véhicule liquide physiologiquement acceptable et/ou le premier constituant comprend un véhicule liquide physiologiquement acceptable, outre l'eau.

10 9. Procédé suivant l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le premier et le second constituants sont mélangés sous l'effet de la pression produite par au moins un propulseur d'aérosol qui peut être un ingrédient de l'un des ou des deux  
15 constituants et/ou être fourni séparément.

20 10. Procédé suivant la revendication 9, caractérisé en ce qu'un propulseur est un ingrédient du second constituant et en ce que l'on applique une pression au premier constituant par l'intermédiaire d'un propulseur qui en est maintenu séparé.

25 11. Procédé suivant l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le premier et le second constituants sont chacun amenés isolément l'un de l'autre, chacun des constituants est amené en doses distinctes réglées dans une chambre de mélange sous l'effet de leur propre pression de propulseur et en ce que le mélange ainsi formé est déchargé de la chambre de mélange par l'intermédiaire d'un orifice, sous l'effet de la pression d'au moins l'un des propulseurs précités.

30 12. Procédé suivant l'une quelconque des revendications 2 à 11, caractérisés en ce que le premier et le second constituants sont mélangés en manière telle que l'on obtienne une dose mesurée de ladite matière active.

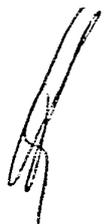
35 13. Procédé suivant l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le second

constituant est amené sous la forme d'une dose mesurée à une dose mesurée du premier constituant.

5 14. Procédé suivant l'une quelconque des revendications 11 à 13, caractérisé en ce qu'en série, on amène le premier constituant à la chambre de mélange, de manière à remplir la chambre, on amène une dose mesurée du second constituant dans la chambre de mélange de manière à engendrer un mélange turbulent des deux constituants et on décharge le mélange de la chambre de  
10 mélange.

15 15. Emballage à utiliser pour la préparation d'un aérosol liposomique, caractérisé en ce qu'il comprend au moins une première et une seconde chambres, une chambre contenant un premier constituant comprenant de l'eau et l'autre chambre comprenant un second constituant comprenant une matière lipidique et l'une des ou les deux  
20 chambres et/ou une troisième chambre incluant une matière servant de propulseur, l'emballage comprenant un agencement pour débiter sous forme d'un spray, un mélange des premier et second constituants amenés à partir de leurs chambres respectives, sous l'effet de la pression développée par la ou les matières servant de propulseurs.

25 16. Emballage suivant la revendication 15, caractérisé en ce qu'au moins l'un desdits premier et second constituants comprend une matière active qui est biologiquement active et/ou intéressante pour le traitement ou les soins du corps humain ou animal et en ce que l'agencement débiteur ou distributeur est tel que  
30 le rapport de mélange des constituants soit réglé de façon que l'on puisse ainsi débiter la dose mesurée souhaitée de ladite matière active.



17. Emballage suivant l'une quelconque des revendications 15 et 16, caractérisé en ce qu'il comprend également un orifice de décharge et une chambre de mélange et un dispositif à soupape pour permettre  
5 l'amenée desdits premier et second constituants à partir de leurs chambres respectives, sous l'effet de la pression développée par un ou plusieurs propulseurs dans la chambre de mélange et pour régler le rapport des composants, de façon à pouvoir débiter la dose mesurée sou-  
10 haitée de mélange à travers l'orifice de décharge.

18. Emballage suivant la revendication 17, caractérisé en ce que le dispositif à soupape comprend un agencement destiné à permettre, en série, l'amenée du premier constituant à la chambre de mélange en vue de  
15 remplir cette chambre, l'amenée d'une dose mesurée du second constituant dans la chambre de mélange en manière telle qu'il se produise un mélange turbulent des deux constituants et la décharge du mélange à travers l'orifice de décharge précité.

19. Emballage suivant l'une quelconque des revendications 17 et 18, caractérisé en ce que le dispositif à soupape comprend un agencement destiné à permettre l'amenée du second constituant dans la chambre de mélange en une multiplicité d'endroits dans cette chambre.

20. Emballage suivant l'une quelconque des revendications 17 à 19, caractérisé en ce que la première et la seconde chambres sont des chambres fermées disposées l'une dans l'autre et en ce que le dispositif à soupape et la chambre de mélange sont disposés dans et/ou au-  
25 dessus de la chambre externe.

21. Emballage suivant la revendication 20, caractérisé en ce que le second constituant comprend un propulseur et est disposé dans une chambre fermée à parois rigides, interne, le premier constituant est  
30

5 disposé dans une chambre fermée à parois souples, externe, l'emballage comprend un boîtier à parois rigides, externe, dans lequel les chambres sont disposées et par l'intermédiaire duquel le dispositif à soupape peut être amené à fonctionner et l'espace entre la chambre fermée externe et le boîtier enveloppant, comprend un propulseur.

10 22. Compositions liposomiques ou liposomes lorsqu'ils sont préparés sous la forme d'un spray par la mise en oeuvre d'un procédé suivant l'une quelconque des revendications 1 à 14 ou par l'utilisation d'un emballage suivant l'une quelconque des revendications 15 à 21.

