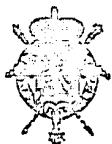


ROYAUME DE BELGIQUE

BREVET D'INVENTION

RL



MINISTÈRE DES AFFAIRES ÉCONOMIQUES

N° 879.442

Classif. Internat.: A61K

Mis en lecture le:

16 -04- 1980

Le Ministre des Affaires Economiques,

*Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention;*

*Vu la Convention d'Union pour la Protection de la Propriété Industrielle;*

*Vu le procès-verbal dressé le 16 octobre 1979 à 15 h. 40*

*au Service de la Propriété industrielle;*

**ARRÊTE :**

**Article 1.** — Il est délivré à la Sté dite : STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION,

6990 Cornell Road, Cincinnati, Ohio 45242, (Etats-Unis d'Amérique),

repr. par l'Office Kirkpatrick-G.C. Plucker à Bruxelles,

un brevet d'invention pour : Microparticules contenant des agents thérapeutiques ou médicinaux et leur application comme contraceptif,

(Inv. : L.R. Beck, C.F. Flowers, D.R. Cowsar et A.C. Tanquary),

qu'elle déclare avoir fait l'objet de demandes de brevet déposées aux Etats-Unis d'Amérique le 17 octobre 1978, n° 952.109 et le 7 décembre 1978, n° 967.380 au nom de L.R. Beck, C.F. Flowers, D.R. Cowsar et A.C. Tanquary dont elle est l'ayant cause.

**Article 2.** — Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit de l'exhaustivité de la description, et sans préjudice du droit des tiers.

Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention (mémento descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui de sa demande de brevet.

Bruxelles, le 16 avril 1980

PAR DÉLÉGATION SPÉCIALE :

L SALPETEUR  
Directeur

# MÉMOIRE DESCRIPTIF

DÉPOSÉ A L'APPUI D'UNE DEMANDE

CC

# BREVET D'INVENTION

FORMÉE PAR

STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION

p o u r

Microparticules contenant des agents thérapeutiques ou médicinaux et leur application comme contraceptif.

-----  
Inventeurs: L.R. BECK, C.F. FLOWERS, D.R. COWSAR et A.C. TANQUARY.

-----  
Demandes de brevets aux Etats-Unis d'Amérique n° 952.109 du 17 octobre 1978 et n° 967.380 du 7 décembre 1978 en faveur de L.R. BECK, C.F. FLOWERS, D.R. COWSAR et R.C. TANQUARY.  
-----

GP.4

7  
5450 BE 5246

La présente invention concerne des microparticules contenant des agents thérapeutiques ou médicinaux et leur application dans l'utérus et dans les trompes de Fallope des organes reproducteurs femelles internes.

Dans le passé, les procédés de traitement général des organes reproducteurs femelles internes comprenaient principalement l'ingestion orale ou l'injection de médicaments à la patiente, afin de traiter les maladies et de régulariser le cycle reproducteur femelle. On connaît peu de procédés grâce auxquels les organes reproducteurs femelles peuvent être traités par la fourniture d'un agent thérapeutique, directement à l'utérus. Une technique qui permet la fourniture directe d'un stéroïde contraceptif dans l'utérus est le dispositif "progestert" qui est un dispositif intra-utérin médicamenteux. Le dispositif est décrit dans les brevets US 3 699 951 et 3 777 015 de Zaffaroni. L'inconvénient d'un dispositif à insérer est sa nécessité d'être mis en place dans l'utérus par un médecin spécialisé. Il existe donc actuellement le besoin d'un procédé perfectionné de fourniture d'un agent contraceptif ainsi que d'autres agents médicinaux tels que des antigènes et des anticorps qui puissent être auto-administrés.

On connaît plusieurs techniques selon lesquelles des agents contraceptifs sous forme de microcapsules peuvent être introduits dans le vagin, mais dans ces techniques, il n'y a pas de transfert de microcapsules à travers le col dans l'utérus. Par exemple, les brevets US 3 918 452 et 3 921 636 décrivent des techniques selon lesquelles un agent pharmaceutique est libéré à partir des microparticules dans un tampon placé dans le vagin.

La technique proposée par Zaffaroni dans les brevets US 3 699 951 et 3 777 015 décrit un dispositif intra-utérin conçu pour la libération directe de progestérone dans l'utérus, dans un but contraceptif. Mais, ce dispositif n'est pas biodégradable et il doit être placé dans l'utérus, puis retiré de l'utérus par un médecin spécialisé. En conséquence, l'utilité du dispositif est limitée du fait qu'il ne peut pas être auto-administré.

Des études préliminaires ont été entreprises dans le but de trouver des matériaux particulaires possibles qui migreraient à travers le col dans l'utérus après dépôt dans le vagin. C'est ainsi qu'on a trouvé que des particules de carbone provenant d'u-

ne capsule contenant une suspension de particules de carbone, placée dans le col, peuvent être récupérées dans l'utérus après le coït (Amersbach, "Sterilité et Frigidité, Muchen. Med.

Wochenschr. 77, 225, 1930). J. Trapl, dans "Nouveaux points de vue sur le transport des ovules et du sperme dans les parties sexuelles de la femme", Zentralbl. Gynak. 67, 547, 1943, a montré que même sans utiliser de capsule cervicale, des particules de carmin migrent, démontrant ainsi que des particules non-douées de mouvement, autres que le carbone, migrent également.

10 En outre, R. Krehbiel et H.P. Carstens, "Examen du lapin aux Rayons X", Am. J. Physiol. 125, 571, 1959, ont montré que le passage d'une huile radio-opaque, placée dans le vagin d'une lapine, était bloqué jusqu'à la stimulation de la vulve, alors que d'autres chercheurs ont montré que le graphite et les colorants 15 dans la gélatine n'étaient pas transportés à travers le col. Il résulte de ces données que la nature des particules affecte le processus de transport et que le transport est facilité par les contractions musculaires. Hartman, dans "Comment le sperme pénètre-t-il dans l'utérus?", Fertil. and Steril 8, 403, 1957, conclut que dans le transport du sperme dans les voies de reproduction, le transport a lieu principalement par coopération des particules avec la musculature des voies de reproduction femelles. G.M. Duncan et D.R. Kalkwarf, "Système de libération continue pour le contrôle de la fertilité", dans Human Reproduction : Conception and Contraception, édité par E.S.E. Hafez et T.N. Evans, Harper and Row, New York, 1973, ont conclu à partir d'expériences, que les particules non-douées de mouvement qui sont à peu près de la dimension de la tête du sperme migrent à travers le col vers les trompes de Fallope. Mais, il est également dit dans 20 cet article que des microcapsules en acéto-butyrate de cellulose, contenant de la progestérone, et d'une dimension comprise entre 5 et 1400  $\mu\text{m}$  ne migrent pas à travers le col vers l'utérus, et sont en fait transportées dans la direction inverse. En conséquence, il est bien précisé dans cet article que les microcapsules 25 d'une dimension supérieure à 5  $\mu\text{m}$  ne migrent pas à l'intérieur des organes reproducteurs femelles internes.

En conséquence, l'invention a pour objet de fournir un procédé grâce auquel des agents thérapeutiques et médicinaux peuvent être administrés localement dans le vagin et transportés à

travers le col dans l'utérus pour traiter les organes reproducteurs femelles internes.

L'invention a également pour objet de fournir des microparticules contenant un agent pharmaceutique qui, lorsqu'il est déposé dans le vagin, peut être transporté à travers le col dans l'utérus par le mécanisme de transport naturel des organes reproducteurs internes.

Ces buts et d'autres encore qui apparaîtront ci-après, peuvent être atteints par un procédé permettant la fourniture d'un agent pharmaceutique aux organes reproducteurs femelles internes, en déposant des microparticules contenant un agent pharmaceutique, directement dans le vagin, et en laissant le mécanisme de transport naturel des organes internes acheminer les microparticules à travers le col dans l'utérus.

15 D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture de la description ci-après qui se réfère aux dessins annexés sur lesquels on a représenté respectivement :

Figure 1, des microparticules de structure monolithique, 20 contenant un agent pharmaceutique;

Figure 2, des microparticules formées d'un noyau d'agent pharmaceutique dans un matériau de matrice entouré d'une enveloppe en un matériau de matrice;

Figure 3, des microparticules formées d'un noyau d'agent 25 pharmaceutique entouré d'une enveloppe en un matériau de matrice;

Figure 4, des microparticules d'une structure en peau d'oignon, faites de couches alternées de matériau de matrice et d'agent pharmaceutique;

Figure 5, des microparticules formées d'un noyau d'un agent pharmaceutique particulier entouré d'une enveloppe de matériau de matrice contenant un second type d'agent pharmaceutique;

Figure 6, des microparticules monolithiques d'agent contraceptif et d'hormone de régulation du cycle dans un matériau de matrice;

35 Figure 7, des microparticules formées d'un noyau d'agent contraceptif et d'hormone de régulation du cycle, entouré d'une enveloppe de matériau de matrice;

Figure 8, des microparticules d'un noyau d'agent contraceptif et d'une hormone de régulation du cycle dans un maté-

riau de matrice entouré d'une enveloppe en un matériau de matrice;

Figure 9, des microparticules d'un noyau d'agent contraceptif dans un matériau de matrice entouré d'une enveloppe d'une hormone de régulation du cycle dans un matériau de matrice;

Figure 10, des microparticules à couches multiples dans lesquelles un agent contraceptif et une hormone de régulation du cycle sont dispersés dans les différentes couches;

10 Figures 11A et 11B, les taux dans le sang de progestérone et d'oestradiol chez des babouins traités avec 7,87 mg de progestérone, respectivement par voie intramusculaire et par voie intravaginale, sur ces figures, P signifie progestérone (mg/ml), T traitement, B biopsie, O oestrogène (pg/ml), TJ temps 15 en jours, TA et TB respectivement traitement : 35,75 mg de microcapsules, n = 5 (7,87 mg de progestérone, injection intramusculaire, dépôt intravaginal);

Figure 12, une série de photomicrographies montrant l'aspect histologique de l'endomètre de babouins;

20 Figure 13, une série de microphotographies montrant la morphologie de la surface de l'épithélium utérin de babouins;

Figures 14A et 14B, les taux dans le sang de progestérone et d'oestrogène chez des babouins traités par 1,57 mg de progestérone, respectivement par voie intramusculaire et par voie 25 intravaginale, sur ces figures, P signifie progestérone (mg/ml), T traitement, B biopsie, O oestrogène (pg/ml), TJ temps en jours, TA et TB respectivement traitement : 7,15 mg de microcapsules, n = 5 (1,57 mg de progestérone, injection intramusculaire, dépôt intravaginal);

30 Figure 15, une série de microphotographies montrant la morphologie de l'épithélium superficiel de l'endomètre de babouins; et

Figures 16A et 16B, des enregistrements de l'activité de contraction de deux babouins femelles dont l'un a été traité 35 avec des microparticules contenant de l'oestradiol et l'autre n'a pas été traité avec des microparticules contenant une hormone, sur ces figures, on a porté en abscisse le temps t en minutes et en ordonnée la modification de diamètre du transducteur M en

Dans son sens le plus large, la présente invention a pour objet la fourniture de microparticules contenant au moins un agent médicinal qui, lorsqu'elles sont déposées dans le vagin, sont transportées par le mécanisme de transport naturel à travers 5 le col jusqu'au moins dans l'utérus et si possible jusqu'aux trompes de Fallope où l'agent médicinal est alors libéré. Selon un des aspects de l'invention, la fourniture des microparticules est utilisée pour acheminer divers anticorps ou antigènes directement dans les organes de reproduction internes pour remplacer 10 l'introduction systémique d'antigènes ou d'anticorps destinés au traitement des organes reproducteurs. En fait l'introduction systémique ne peut pas être utilisée comme un moyen d'administration de nombreux antigènes et anticorps dans le corps pour le traitement des organes reproducteurs. Selon une autre caractéristique 15 importante de l'invention, on prévoit un procédé pour l'introduction dans le vagin de microparticules contenant un agent contraceptif, suivie du transport de ces microparticules à travers le col de l'utérus. L'introduction directe et locale de l'agent contraceptif présente l'avantage que des doses beaucoup plus petites 20 de nombreux types d'agents contraceptifs peuvent être auto-administrées afin d'obtenir virtuellement le même effet contraceptif que celui résultant de l'introduction systémique de quantités plus importantes de médicament. Bien que le procédé selon l'invention soit efficace pour la fourniture de microparticules contenant un 25 agent contraceptif dans des circonstances normales dans lesquelles une femme a un cycle menstruel réglé, le procédé selon l'invention peut être modifié pour faire en sorte qu'une femme dont le cycle n'est pas régulier, puisse être réglée et qu'en même temps les organes internes puissent devenir de plus en plus capables de 30 transporter les microparticules contenant l'agent contraceptif par le col jusque dans l'utérus et les trompes de Fallope. L'effet désiré peut être atteint en incorporant une hormone de réglage du cycle menstruel et une hormone facilitant le transport cervical qui est normalement un oestrogène ou une progestine dans les 35 microparticules en plus de l'agent contraceptif.

Il existe deux moyens fondamentaux qui permettent de stimuler le rôle des anticorps dans le corps pour combattre les effets des antigènes. Une de ces techniques est l'immunisation active, alors que l'autre est l'immunisation passive. Pour immu-

6.07.94

niser activement un sujet, on lui administre un antigène afin d'induire la formation d'anticorps endogènes. Normalement, cette technique exige un délai d'au moins deux semaines avant d'obtenir un taux dans le sang de réponse d'anticorps suffisamment élevé. En raison de ce délai, la technique d'immunisation active impose des limites au traitement des maladies infectieuses qui ont un court temps d'incubation, au traitement d'une maladie qui progresse rapidement et à l'inversion ou à la modification des effets des médicaments, toxines, hormones et enzymes. La seconde technique fondamentale d'immunisation est l'immunisation passive, grâce à quoi des anticorps sont administrés afin d'obtenir une protection immunitaire temporaire. L'immunisation passive a l'avantage que les effets biologiques sont immédiats et peuvent être efficacement mis à profit chez des patientes souffrant de maladies d'immunodéficience. De plus, l'immunisation active n'est pas limitée à l'utilisation d'antigène non-toxiques, car des espèces animales peuvent être utilisées comme source d'anticorps protecteurs. Le transport des microparticules est réglé par les changements cycliques dans les hormones de stéroïdes, ovariennes, endogènes, l'oestradiol et la progestérone. Pendant les premiers jours du cycle menstruel ou pendant la phase folliculaire ou "oestrogène" du cycle, les ovaires produisent de l'oestradiol qui exerce un effet stimulant sur la contraction du muscle cervical. La fréquence et l'amplitude des contractions cervicales augmentent constamment du jour zéro au 14ème jour, au moment où se produit l'ovulation, et le cycle entre dans la phase de lutéinisation ou progestative lorsque les ovaires commencent à secréter la progestérone. La progestérone exerce un effet inhibiteur sur l'activité de contractilité du col ou bien un effet de relaxation musculaire sur le col. Les hormones ovariennes montrent également un effet contraire dans les cellules du col, c'est-à-dire que l'oestradiol provoque une accumulation de produits de sécrétion dans les cellules du col, alors que la progestérone active la libération de ces produits dans la lumière cervicale. Les interactions décrites ici constituent le mécanisme qui régit les changements de viscosité du fluide cervical.

Le fluide ou mucus du col est dynamique et est un type aqueux d'hydrogel. Le transport des microparticules ainsi que du

sperme dépend de la perméabilité du mucus cervical vis-à-vis des microparticules, ainsi que de la propulsion fournie par les contractions du col dues à l'oestrogène. Le moment le plus approprié pour le transport des microparticules par le col est celui 5 où l'utérus montre une activité de contractilité et une perméabilité du mucus cervical maximale. En conséquence, la plus grande vitesse de transport du sperme ou des microparticules à travers le col doit se produire entre le 12ème et le 16ème jour du cycle menstruel, bien que le jour réel de l'ovulation puisse varier de 4 à 6 jours selon les individus, un certain transport pouvant même avoir lieu avant le 12ème jour du cycle chez certaines personnes. Normalement, le col n'est pas très réceptif au transport pendant les douze premiers jours du cycle menstruel, ainsi qu'entre les 16ème et 28ème jours. C'est ainsi que pour 15 fournir des microparticules contenant un antigène, un anticorps ou un agent contraceptif dans le col, les microparticules en une dose appropriée n'ont besoin que d'être déposées dans le vagin seulement avant le 16ème jour du cycle, de préférence avant le 12ème jour.

20 Dans un mode de mise en œuvre préféré de l'invention, on tire avantage du fait que les hormones d'oestrogène et de progestine ont un effet de stimulation du transport sur les organes internes. C'est ainsi que des microparticules contenant un oestrogène ou une progestine et un agent médicinal, ou des microparticules contenant un oestrogène ou une progestine avec des microparticules contenant un agent médicinal peuvent être introduites dans le vagin pour régulariser le cycle menstruel d'une femme qui n'a pas un cycle régulier ou pour stimuler le col pour transporter les microparticules du col vers l'utérus et les trompes de Fallope. La progestine ou l'oestrogène localement absorbé en une quantité biologiquement efficace induit les changements de sécrétion nécessaires dans l'endomètre du col et favorise l'activité contractile du col, nécessaire au transport des microparticules. Une fois que l'activité de transport a commencé, les microparticules sont acheminées par le col dans l'utérus. L'oestrogène et la progestine en quantités appropriées stimulent le transport. Cependant un taux trop élevé de progestine a un effet contraire sur le transport des microparticules, car les progestines ont un effet de relaxation musculaire sur le tissu du col. Cependant,

l'effet contraire de la progestine administrée peut être renversé par l'administration d'une concentration suffisante d'un oestrogène au moyen de microparticules contenant un oestrogène tel que l'oestradiol, qui tel que discuté ci-dessus induit l'activité contractile des tissus du col. Normalement, lorsque l'oestradiol est fourni localement par l'intermédiaire des microparticules, la quantité de microparticules administrées doit être suffisante pour fournir de 0,1 à 1 mg/jour pendant 7 à 14 jours.

D'un autre côté, lorsqu'on incorpore de la progestérone dans les microparticules, la quantité de microparticules administrées doit être suffisante pour fournir de 0,5 à 2 mg/jour pendant une période de 7 à 14 jours.

En ce qui concerne ce qui a été dit ci-dessus, les microparticules selon l'invention peuvent fournir la possibilité d'administrer localement un agent contraceptif, un antigène ou un anticorps dans le col, tout en activant de façon simultanée et exogène un cycle menstruel chez une femme non réglée, par l'administration d'une hormone ovarienne appropriée et stimulant le col pour le transport des microparticules. Ainsi, des microparticules contenant un oestrogène peuvent être administrées pour faire en sorte que l'oestradiol ou un oestrogène synthétique soit libéré dans le col pendant une période de 14 jours, reproduisant ainsi la première moitié du cycle menstruel. Lorsque le transfert des microparticules a lieu à travers le col, un agent médicinal dans les microparticules ou dans des microparticules séparées est fourni à l'utérus. Quatorze jours après l'administration des microparticules contenant l'oestrogène, on administre alors des microparticules contenant de la progestérone et éventuellement un anticorps ou un antigène. C'est ainsi, que le cycle menstruel naturel complet peut être reproduit tout en fournissant simultanément une protection par un anticorps ou un antigène. Naturellement, il entre également dans le cadre de l'invention de fournir des microparticules contenant un oestrogène ou une progestine dans le col pour régulariser le cycle, et d'administrer ensuite des microparticules contenant un antigène ou un anticorps au moment du cycle où le col est réceptif au transport. Dans le cycle induit artificiellement, le transport maximal à travers le col est obtenu entre le 12ème et le 16ème jour. Etant donné que les hormones réglant le cycle sont administrées localement dans la

S. S.

technique de la présente invention, une activité efficace de l'oestradiol peut être obtenue à des doses de 0,01 à 0,07 mg/jour, alors qu'une activité efficace de la progestérone peut être obtenue à des doses de 0,04 à 0,14 mg/jour. L'oestradiol et 5 la progestérone sont les hormones régulatrices, préférées. Cependant, il est évident que d'autres oestrogènes et progestines peuvent être utilisés comme substituts de l'oestradiol et de la progestérone, respectivement. Comme oestrogènes appropriés, on peut citer l'oestrone, le mestranol, l'éthynodiol oestradiol, la 2-10 méthoxy-oestrone, la 2-hydroxyoestrone et l'oestriol. Comme progestines, on peut citer la noréthindrone, la diméthistérone, l'éthynodiol diacétate, le noréthynodiol, le noréthindrone acétate et le norgestrol. Lorsqu'on utilise les composés synthétiques, 15 la dose employée dépend entièrement de l'activité biologique du composé d'oestrogène ou de progestine synthétique.

Les microparticules contenant un agent médicinal tel qu'un anticorps, un antigène ou un agent contraceptif et/ou une hormone régularisant le cycle menstruel peuvent être formées selon diverses configurations. Dans les cas probablement les plus 20 simples, illustrés sur les figures 1 à 6, des microparticules de structure monolithique sont préparées dans lesquelles l'antigène ou l'anticorps 2 d'une part, ou l'agent contraceptif 21 et l'hormone de réglage du cycle 22 d'autre part, sont répartis dans un matériau de matrice 1 (ou 23) qui est biodégradable et biocompatible. Une fois que les microparticules sont déposées dans le vagin, elles commencent à se détériorer lentement, en libérant de façon continue le médicament désiré pour obtenir la dose journalière recherchée pendant une période de temps prolongée s'étendant de l'instant du dépôt dans le vagin jusqu'à bien après le 25 transport des microparticules par le col et leur dépôt dans l'utérus. Lorsque les microparticules contiennent une hormone de réglage du cycle, une libération continue de l'hormone régularise les propriétés du mucus cervical et l'activité contractile du col. Etant donné que les microparticules de ce mode de mise en 30 oeuvre particulier libèrent continuellement leurs constituants actifs à partir de l'instant du dépôt dans le vagin, il est évident qu'on obtient les résultats les plus avantageux si les microparticules sont formées pour faire en sorte qu'elles aient une durée de vie efficace voisine de la période du cycle menstru-

el, si bien qu'il suffit d'administrer les microparticules une seule fois pendant le cycle. Cependant, ceci ne représente qu'un mode de mise en œuvre préféré, car les microparticules peuvent être administrées autant de fois que nécessaire pour obtenir des effets contraceptifs et de réglage du cycle.

La figure 2 illustre un autre mode de mise en œuvre des microparticules de structure monolithique, dans lequel un antigène ou un anticorps 2 est incorporé dans un matériau de matrice 1 qui est à son tour entouré d'une enveloppe 3 d'un matériau de matrice sans médicament. Ce type de configuration de microparticule dans lequel les particules ont une dimension telle qu'elles possèdent une activité de supplément du sperme, est souhaitable lorsque la libération du médicament ne doit avoir lieu que quelque temps après le dépôt des microparticules dans le vagin. La libération retardée du médicament résultant de l'emploi des microparticules ci-dessus, par exemple, permet un temps suffisant pour le dépôt des microparticules dans le vagin, leur transport par le col et leur dépôt dans l'utérus, avant que ces microparticules ne se désagrègent jusqu'à ce que la paroi externe soit pratiquement éliminée et la libération du médicament commence.

La figure 7 illustre des microparticules dans lesquelles un noyau 25 d'agent contraceptif 21 et d'hormone de réglage du cycle 22 est enrobé dans une enveloppe 27 d'un matériau de matrice 24. Cette configuration particulière des microparticules est souhaitable lorsqu'il est nécessaire de retarder la libération des constituants actifs des microparticules déposées, tel que décrit ci-dessus pour les microparticules de la figure 2.

Dans une autre configuration de microparticule, telle que celle représentée sur la figure 3, les microparticules peuvent être conçues pour la libération immédiate d'une grande quantité d'anticorps ou d'antigène. Dans ce but, les microparticules peuvent être formées de telle sorte qu'un noyau 5 d'antigène ou d'anticorps est enrobé dans une enveloppe d'un matériau de matrice 1. Les microparticules contenant un noyau de médicament sont spécialement appropriées dans les cas où l'on met à profit un facteur endogène pour briser l'enveloppe extérieure des microparticules. Par exemple, la différence de pH entre les fluides du mucus dans le vagin d'une part et le col et l'utérus d'autre part, peut être mise à profit pour faire en sorte que la désagrégation

de l'enveloppe externe se produise lorsque les microparticules atteignent la zone du col ou de l'utérus. Dans ce cas, le pH acide du vagin doit avoir peu d'effet ou être sans effet sur l'enveloppe des microparticules. Cependant, lorsque les micro-  
5 particules sont acheminées dans le col où elles sont exposées au pH neutre, l'enveloppe externe commence à se déchirer, ce qui résulte éventuellement en la libération soudaine du médicament, d'où un avantage lorsqu'il est souhaitable de fournir une quantité substantielle d'anticorps à une patiente souffrant d'une  
10 infection aiguë ou ayant une concentration élevé en toxine. Ce procédé semble être particulièrement désirable lorsqu'on souhaite administrer une réponse de renforcement après qu'un individu a déjà reçu une immunisation primaire.

Dans le traitement de patients atteints de certaines  
15 maladies, il est avantageux de pouvoir administrer un antigène ou un anticorps de façon intermittente. Ceci peut être réalisé en utilisant des microparticules dont la configuration est illustrée sur la figure 4, où des couches alternées de médicament seul ou dispersé dans un matériau de matrice 7 et un matériau de matrice  
20 sans médicament 1 sont formées en couches concentriques. Lorsque ces microparticules sont déposées dans le vagin, la libération du médicament n'a pas lieu avant que la couche extérieure des microparticules ne se désintègre. Lorsque la couche sous-jacente est à son tour exposée, la libération du médicament commence et continue jusqu'à ce que la couche soit désintégrée ou ait libéré le médicament. La libération du médicament cesse dès que la nouvelle couche sous-jacente sans médicament est atteinte. De cette façon, on obtient une libération intermittente du médicament. Un exemple de l'application possible de cette technique peut être trouvé  
25 dans une immunisation active où la couche de médicament extérieure libère un antigène pendant une période donnée qui est suivie d'une période d'une à deux semaines, par exemple, pendant laquelle il n'y a pas libération de médicament. Lorsque la couche ne contenant pas de médicament s'est désintégrée, une seconde période de libération d'antigène débute. De cette façon, une simple administration de microparticules permet de fournir une dose d'  
30 immunisation primaire, suivie d'une dose de renforcement.  
35

Lorsqu'on désire non seulement acheminer un antigène ou un anticorps vers l'utérus par le col, mais également administrer

une hormone de réglage du cycle, afin d'activer ou de régler le mécanisme de transport naturel, il est possible d'administrer des microparticules d'une structure monolithique, telle que représentée sur la figure 1, dans laquelle l'antigène ou l'anti-corps et l'hormone de réglage du cycle sont dispersés dans un matériau de matrice. De cette façon, dès que les microparticules ont été déposées dans le vagin, la libération de l'hormone et de l'antigène ou de l'anticorps commence et éventuellement les microparticules sont acheminées par le col dans l'utérus. Un régime d'administration peut-être plus sélectif peut être fourni par des microparticules qui ont une couche de matrice extérieure contenant une hormone de réglage du cycle et un noyau interne de matériau de matrice contenant un antigène ou un anticorps. Lorsque ces microparticules sont administrées, la libération prolongée de l'hormone de réglage du cycle commence, et lorsque le col est réceptif au transport, les microparticules sont transportées à travers le col dans l'utérus. La libération de l'antigène ou de l'anticorps a lieu dans le col ou dans l'utérus dès que le noyau des microparticules d'antigène ou d'anticorps sus-jacent est exposé. La figure 5 illustre des microparticules de la structure discutée ci-dessus dans laquelle la couche 9 externe contenant l'hormone de réglage du cycle enrobe le noyau interne 11 contenant l'antigène ou l'anticorps. L'antigène ou l'anticorps seul peut constituer le noyau des microparticules ou bien l'antigène ou l'anticorps peut être dispersé dans le matériau de matrice pour former le noyau 11. Cependant, une couche externe ou enveloppe 9 est formée en dispersant une hormone de réglage du cycle menstruel dans un matériau de matrice.

Des discussions ci-dessus, il ressort qu'un anticorps ou un antigène seul ou en association avec une hormone de réglage du cycle peut être incorporé dans des microparticules de diverses configurations, selon la façon dont le médicament ou les médicaments doit (doivent) être libéré(s). De plus bien que les microparticules à couches multiples, telles que les types illustrés sur les figures 2, 4 et 5, sont normalement formées d'un seul type de matériau de matrice, il est possible, sinon désirable dans certains cas, de former des couches contiguës de microparticules à partir de différents matériaux de matrice. Il est également possible que, dans certains cas, il soit désirable de

fournir plus d'un antigène ou anticorps aux organes de reproduction internes, dans le but de traiter plus d'un trouble. C'est ainsi que, par exemple, on peut préparer et fournir des microparticules monolithiques, contenant deux anticorps différents 5 pour traiter passivement deux maladies différentes. En fait, il peut être souhaitable dans certains cas d'immuniser activement une patiente contre un trouble et d'immuniser passivement simultanément la patiente contre un second trouble avec un antigène ou un anticorps fourni dans les mêmes microparticules. Naturellement, lorsque plusieurs antigènes et/ou anticorps sont associés 10 dans une microparticule où ils peuvent être en contact, et non pas dans des couches différentes d'une microparticule, ils ne doivent pas réagir l'un avec l'autre.

Une autre configuration de microparticule est représentée sur la figure 8, où un agent contraceptif 21 et une hormone de réglage du cycle 22 qui ne sont pas susceptibles de réagir l'un avec l'autre sont dispersés dans un matériau de matrice 23 en formant un noyau 25. Les microparticules sont terminées en enrôlant les particules de matériau de matrice contenant le médicament dans une enveloppe 27 de matériau de matrice 24. Les matériaux de matrice 23 et 24 du noyau interne 25 et de l'enveloppe 27 peuvent être des matériaux identiques ou différents. L'emploi de matériaux de matrice différents est particulièrement recommandé lorsqu'il est souhaitable de tirer profit des vitesses de désagrégation différentes des matériaux de matrice ou des vitesses de diffusion différentes du médicament à travers les matériaux de matrice. La libération de l'agent contraceptif et de l'hormone de réglage du cycle n'a pas lieu avant que l'enveloppe de matériau de matrice 24 n'ait été désagrégée.

La figure 9 représente une structure de microparticule dans laquelle un noyau 25 d'agent contraceptif 21 dans un matériau de matrice 23 est formé, puis est enroulé d'une enveloppe 27 d'un matériau de matrice 24 contenant une hormone de réglage du cycle 22. Les microparticules de cette configuration spéciale sont particulièrement utilisables lorsqu'on désire déposer des microparticules dans le vagin, pour obtenir une libération initiale graduelle uniquement de l'hormone de réglage du cycle 22, qui régularise le cycle menstruel et stimule le transport des microparticules à travers le col. De cette façon, la régularisa-

tion du cycle menstruel et au moins le transport initial des microparticules peuvent être amorcés lorsque le noyau interne 25 est suffisamment exposé pour permettre la libération de l'agent contraceptif enrobé 21. Naturellement, l'agent contraceptif 21 peut être enrobé seul ou dispersé dans un matériau de matrice de noyau qui peut être le même ou différent du matériau de matrice de l'enveloppe 24.

Une configuration de microparticule à couches multiples est représentée sur la figure 10. Ces microparticules possèdent 10 un noyau interne 25 d'un agent contraceptif 21 seul ou dispersé dans un matériau de matrice 23. Le noyau 25 est enrobé dans une enveloppe 27 d'un matériau de matrice 24, qui à son tour est enrobée dans une enveloppe externe 31 d'un matériau de matrice 29 contenant une hormone de réglage du cycle 28. Des microparticules 15 de cette configuration particulière sont utiles dans les cas où il est souhaitable d'administrer une hormone de réglage du cycle après le dépôt des microparticules dans le vagin. Après la libération de la totalité de l'hormone de réglage du cycle, la libération de l'agent contraceptif est retardée jusqu'à ce que 20 l'enveloppe interne 27 ait été désagrégée à un degré suffisant pour permettre la libération de l'agent contraceptif du noyau 25. En même temps, le transport des microparticules a lieu, de telle sorte que la libération de l'agent contraceptif est retardée jusqu'à ce que la masse des microparticules ait été acheminée dans 25 l'utérus.

En ce qui concerne la forme physique des microparticules, ces dernières peuvent avoir toute forme possible, allant de formes bien ordonnées telles que sphériques ou ovales à des formes irrégulières. La forme des microparticules n'est pas un facteur critique dans le transport des microparticules. Normalement, 30 l'agent médicinal diffuse des microparticules par désagrégation progressive du matériau de matrice et/ou par perméation de l'agent à partir du matériau de matrice.

La dimension des microparticules est importante dans la 35 mesure où les microparticules doivent posséder une activité de supplément du sperme, telle qu'elles peuvent être acheminées par le mécanisme de transport naturel des organes reproducteurs du col dans l'utérus et éventuellement dans les trompes de Fallope. Si les microparticules sont trop grandes, elles provoqueront des

contractions du col qui expulseront les microparticules. Des microparticules trop petites ne sont pas acheminées dans les organes de reproduction internes. Normalement, les microparticules ont des dimensions comprises entre 20 et 70  $\mu\text{m}$ , de préférence 5 entre 20 et 60  $\mu\text{m}$ .

Le matériau de matrice dont les microparticules sont formées et dans lequel l'agent contraceptif et l'hormone de réglage du cycle sont dispersés, est important non seulement du point de vue de l'activité de suppléant du sperme, mais également du point de vue de la biocompatibilité. Un matériau utilisable comme matériau de matrice ne doit pas avoir d'effet contraire ou nuisible sur les organes reproducteurs femelles internes. Le matériau de matrice doit également être bicompatible en ce sens qu'il ne doit pas irriter les tissus du col ou de l'utérus, il ne doit pas être carcinogène et ne doit pas provoquer d'inflammation dans les tissus corporels. Le matériau de matrice doit être compatible avec les tissus corporels et il doit être miscible avec le mucus cervical. Un autre facteur d'importance est la biodégradabilité du matériau de matrice, c'est-à-dire que les processus chimiques corporels doivent être capables de désagréger éventuellement le polymère afin qu'il ne s'accumule pas dans le corps. Le matériau de matrice doit également être capable, lorsqu'il est sous la forme d'une microparticule, de se détériorer lentement pendant une période de temps qui correspond au moins au cycle menstruel mensuel femelle. Comme exemples de matériaux de polymères appropriés, on citera l'acide polyglycolique, l'acide d,l-polylactique, et leurs copolymères, et similaires. D'autres matériaux de matrice utilisables comprennent des matériaux tels que les mono- et distéarates de glycérol. D'autres matériaux de matrice comprennent ceux qui se décomposent dans le milieu neutre du col.

Dans la préparation des microparticules contenant un anticorps ou un antigène, pratiquement tout anticorps ou antigène connu peut être incorporé dans les microparticules, bien qu'on utilise de préférence ceux qui sont employés en particulier pour le traitement des maladies et troubles des organes reproducteurs internes. Comme types appropriés d'antigènes qui peuvent être incorporés dans les microparticules selon l'invention, on citera les pathogènes bactériens et virals de l'homme et des animaux,

mais on peut également utiliser des enzymes et d'autres facteurs biologiques impliqués dans le processus de reproduction. Comme exemples d'antigènes pathogènes appropriés, on citera : Neisseria gonorrhoea, Mycobacterium tuberculosis, Herpes virus

- 5 (humonis, types 1 et 2), Candida albicans, Candida tropicalis, Trichomonas vaginalis, Haemophilus vaginalis, Groupe B streptococcus ecoli, Microplasma hominis, Hemophilus ducreyi, Granuloma inguinale, Lymphopathia venereum, Treponema pallidum, Brucella abortus, Brucella melitensis, Brucella suis, Brucella canis,
- 10 Campylobacter fetus, Campylobacter fetus intestinalis, Leptospira pomona, Listeria monocytogenes, Brucella ovis, Equine herpes virus I, Equine arteritis virus, EHV-1B virus, EVD-MB virus, Chlamydia psittaci, Trichomonas foetus, Toxoplasma gondii, Escherichia coli, Actinobacillus equuli, Salmonella abortus ovis,
- 15 Salmonella abortus equi, Pseudomonas aeruginosa, Corynebacterium equi, Corynebacterium pyogenes, Actinobacillus seminis, Mycoplasma bovigenitalium, Aspergillus fumigatus, Absidia ramosa, Trypanosoma equiperdum, Babesia caballi, Clostridium tetani.

- Comme exemples appropriés d'enzymes impliquées dans le procédé de reproduction, on peut citer la ribonucléase, la neuramidinase, la trypsin, la glycogène phosphorylase, la déshydrogénase lactique du sperme, l'hyaluronidase du sperme, l'adénosine triphosphatase, la phosphatase alcaline, la phosphatase estérase alcaline, l'amino peptidase, la trypsin chymotrypsine, l'amylase, la muramidase, l'acrosomal protéinase, la diestérase, la déshydrogénase de l'acide glutamique, la déshydrogénase de l'acide succinique, la bêta-glycophosphatase, la lipase, l'ATPase alpha-peptate gamma-glutamyltrans peptidase, la stérol-3-béta-ol-déshydrogénase, la DPN-di-aprorase.

- 30 Des hormones agissant comme antigènes sont par exemple les hormones de gonadotrophine chorionique humaine; la lactogène placentaire humaine, la progestérone, l'oestradiol et similaires. Comme autres antigènes, on peut encore citer ceux connus comme antigènes cellulaires embryonnaires qui se trouvent sur la surface cellulaire du trophoblaste et uniquement là. En plus des pathogènes cités ci-dessus, on peut également incorporer dans les microparticules des mélanges de pathogènes qui peuvent infecter les organes reproducteurs femelles.

Comme exemples d'anticorps pour une immunisation passi-

ve, incorporables dans les microparticules, on citera ceux qui correspondent à tous les antigènes décrits ci-dessus, qui sont efficaces pour une immunisation active. On peut également utiliser les anticorps qui sont efficaces contre le sperme, les ovaires, les produits de conception et similaires.

Lorsque les microparticules contenant un antigène ou un anticorps sont administrées à un sujet, elles sont administrées en une quantité telle que le taux de dose journalier désiré d'antigène ou d'anticorps soit fourni pour faire en sorte d'obtenir la réponse désirée en la période de temps voulue; pour l'antigène, cette quantité est de 0,5 à 1 mg environ d'antigène par jour pendant une période de 7 à 14 jours. La dose requise pour une immunisation de renforcement est comprise entre 0,5 à 1 mg environ par jour pendant une durée de 24 heures. En égard à l'immunisation passive par l'administration d'un anticorps, le poids d'anticorps administré n'est pas nécessairement en rapport avec l'effet thérapeutique réalisé. Le facteur important en terme de dose pour une immunisation passive est le titre d'anticorps ou l'activité biologique. Le titre d'anticorps est la dilution maximale de l'anticorps qui provoque un effet dans les conditions d'un test: Deux préparations différentes d'anticorps ne sont pas absolument comparables sur une base pondérale, car elles ont des activités biologiques différentes. Un titre immunologique de 1:500 est l'activité biologique minimale pour tout anticorps à administrer par le procédé selon l'invention. De plus, le taux auquel l'immunoglobuline ou anticorps doit être fourni au col, à l'utérus et aux trompes de Fallope, ne doit pas dépasser 0,1 mg d'anticorps par jour.

Toute dose inférieure à ce taux, qui est efficace pour provoquer une réponse thérapeutique, est acceptable.

Les microparticules contenant un antigène, un anticorps ou un agent contraceptif peuvent être préparées de façon commode par tout procédé connu antérieurement pour la préparation de microparticules contenant un matériau ou substance pharmaceutique. Alors que la quantité d'antigène ou d'anticorps, et d'hormone de réglage du cycle, si elle est présente, n'est pas critique, normalement les microparticules contiennent de 10 à 60 % en poids environ, de préférence de 10 à 50 % en poids environ, avantagéusement de 10 à 25 % en poids environ, d'anticorps ou d'antigène.

La première limite s'opposant à une immunisation passive d'un sujet par l'administration d'anticorps en médecine clinique, est due au fait que les anticorps produits chez les animaux provoquent très souvent une maladie sérieuse ou anaphylaxie lorsqu'ils sont injectés à des receveurs humains. Cependant, la technique de fourniture locale selon l'invention résout ce problème, car non seulement il suffit de doses bien plus faibles, mais encore on évite une administration systémique des anticorps.

Dans certains cas, une immunisation active est plus avantageuse qu'une immunisation passive, par exemple pour une protection permanente contre des maladies infectieuses. C'est ainsi que, lorsqu'un antigène est fourni à l'utérus et aux trompes de Fallope par la technique selon l'invention, des anticorps sont secrétés, qui non seulement confèrent l'effet immunologique désiré, mais sont également structuralement et fondamentalement remarquables parmi les types d'anticorps produits en réponse à une immunisation systémique. Les anticorps systémiques ne sont pas secrétés par les organes reproducteurs, et c'est pour cette raison que l'immunisation systémique n'est pas une technique efficace pour engendrer des anticorps dans les fluides du col, de l'utérus et des trompes de Fallope.

Un autre aspect de l'immunisation active concerne la fertilité. Dans ce cas, les antigènes du sperme sont fournis par le transport de microcapsules contenant un antigène dans le col, l'utérus et les trompes de Fallope. L'antigène qui est lentement libéré pendant une période de temps continue, stimule les tissus secréteurs des organes pour qu'ils secrètent des anticorps protecteurs dans la couche fluide qui recouvre les organes internes qui sont essentiellement le col, l'utérus et les trompes de Fallope. Après la copulation et le dépôt de sperme dans le vagin, les anticorps dans le mucus cervical provoquent une agglutination du sperme dans le col et empêchent alors le transport du sperme dans l'utérus. Les anticorps contre le sperme inactivent également le sperme par des techniques autres que l'agglutination.

En ce qui concerne les microparticules contenant un agent contraceptif selon l'invention, tout type d'agent contraceptif qui a l'effet contraceptif désiré, en particulier chez les mammifères, peut être formulé en microparticules selon l'invention. Comme exemples d'agents contraceptifs, on citera des compo-

sés spermicides tels que le nonylphénoxypolyoxyéthylène éthynol, le chlorure de benzéthonium (chlorure de benzylidiméthyl [ (2-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl-phénoxy)éthoxy) éthyl] ammonium, le chlorindanol (7-chloro-4-indanol) et similaires; et les hormones 5 naturelles et synthétiques telles que la progestérone ( $\Delta$  4-prégnène-3,20-dione), l'oestradiol (oestradiol 3,17 $\beta$ -dicypionate), la noréthindrone (17-hydroxy-19-nor-17 $\alpha$ -prégn-4-en-20-yn-3-one), le norgestrel (d,l-13 $\beta$ -éthyl-17 $\alpha$ -éthynyl-17 $\beta$ -hydroxy-4-en-3-one), l'éthynodiol diacétate (3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diacétoxy-17 $\alpha$ -éthynyl-4-10 oestrène), le lynestrénol (17 $\alpha$ -éthynyl{oestr-4-en-17 $\beta$ -ol}), l'acétate de méthoxy-progestérone (17 $\beta$ -hydroxy-6 $\alpha$ -méthylprègn-4-ène-3,20-dione), la diméthistérone (17 $\beta$ -hydroxy-6 $\alpha$ -méthyl-17,1-propynyl-androst-4-en-3-one), l'acétate de megestrol (acétate de 17 $\alpha$ -hydroxy-6-méthylpregn-4,6-diène-3,20-dione), l'acétate de 15 chlormadinone (acétate de 6-chloro-17-hydroxy-prégrna-4,6-diène-3,20-dione), l'éthynyl{oestradiol (17 $\alpha$ -éthynyl-1,3,5(10)-oestradiène-3 $\beta$ -ol), le mestranol (3-méthoxy-19-nor-17 $\alpha$ -prégrna-1,3,5(10)-trièn-20-yn-17-ol) et similaires. Une autre classe de composés entrant dans le cadre de l'invention est celle constituée par des composés qui induisent un avortement prématuré chez les mammifères. Comme exemples appropriés de ces composés, possédant une activité abortive, on peut citer les antihistamines, les médicaments cytotoxiques, les alcaloïdes d'ergot de seigle, les hormones, les prostaglandines telles que les prostaglandines E<sub>2</sub> 20 et F<sub>2</sub> $\alpha$  (acide 11 $\alpha$ ,15(S)-dihydroxy-9-céto-prosta-5-cis-13-trans-diénoïque et acide 9 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -15(S)-trihydroxy-prosta-5-cis-13-trans-diénoïque, respectivement), les composés sympatholytiques et similaires. Naturellement, on peut également utiliser des mélanges de plusieurs agents contraceptifs lorsque les composés individuels sont biologiquement compatibles.

La quantité de microparticules déposées dans le vagin dépend de la quantité d'agent contraceptif qui doit être fournie à l'utérus et aux trompes de Fallope pour obtenir l'effet contraceptif recherché. Dans le cas d'hormones qui produisent un effet contraceptif, la dose d'hormone qui doit être administrée est comprise entre 20 et 1000  $\mu$ g par jour. Dans le cas d'agents contraceptifs spermicides, il n'est pas nécessaire d'administrer une dose journalière au cours de la plus grande partie des jours du cycle menstruel. Il suffit d'administrer un agent spermicide pen-

dant plusieurs jours vers le milieu du cycle, lorsque la conception est possible, à un taux de dose suffisant pour empêcher la conception. Normalement, une dose de 25 à 1000 µg par jour pendant 7 jours vers le milieu du cycle suffit à obtenir l'effet désiré. D'autres types d'agents contraceptifs qui sont utilisables, tel que discuté ci-dessus, sont les médicaments abortifs. Ces médicaments abortifs doivent être administrés immédiatement après une période menstruelle manquante, pendant 3 à 5 jours, à une dose de 1 à 500 mg par jour.

10 Pour produire les microparticules contenant un antigène ou un anticorps et une hormone de réglage du cycle menstruel, tout procédé classique de formage des microparticules peut être utilisé. Le choix d'un procédé particulier dépend principalement des caractéristiques techniques du matériau de matrice et de la 15 façon particulière dont doivent être utilisées les microparticules. De façon générale, les procédés de micro-enrobage peuvent être classés en trois types principaux, (1) des procédés de séparation de phases, comprenant les procédés de séparation de phases organique et aqueuse, la dispersion à l'état fondu et le séchage 20 par atomisation; (2) des réactions interfaciales comprenant la polymérisation interfaciale, la polymérisation in situ et les dépôts de vapeur chimique; et (3) des procédés physiques, comprenant le revêtement par pulvérisation en lit fluidisé, le revêtement centrifuge par simple orifice ou orifices multiples, le 25 vêtement électrostatique et le dépôt de vapeur physique.

Les microparticules contenant des agents médicinaux ou thérapeutiques peuvent être fournies au vagin par divers procédés. Le procédé préféré consiste à incorporer un nombre donné de microparticules dans un récipient conçu pour une insertion manuelle aisée dans le vagin. Le récipient à insérer doit être produit en un matériau biodégradable qui se dissout quelques minutes après avoir été placé dans le vagin, libérant ainsi les microparticules. Des capsules de gélatine du type pharmaceutique peuvent être avantageusement utilisées comme système de fourniture pour 30 les microparticules. Le taux de dose peut varier en augmentant ou diminuant le nombre de microparticules dans le système de fourniture. Naturellement, on peut utiliser ce procédé préféré ou tout autre procédé permettant d'une façon quelconque de modifier 35 le taux de dose. Par exemple, les microparticules peuvent être

moulées dans un suppositoire vaginal solide qui offre le procédé direct le plus simple pour fournir les microparticules, en utilisant un milieu de suspension approprié tel que la gélatine. Des crèmes, gelées, mousses ou liquides peuvent être utilisées comme 5 milieu de suspension pour les microparticules. Des préparations de ce type peuvent être placées dans le vagin au moyen d'une seringue chargeable ou d'un type quelconque d'un dispositif d'insertion vaginale, sous pression, tel qu'un dispositif aérosol ou un tube ou une ampoule à presser. Différents types d'applicateurs 10 pour administrer des agents pharmaceutiques dans le vagin et dans le rectum sont d'un usage commun. Une capsule de gélatine constitue également un véhicule commode pour la fourniture des microparticules.

L'invention ayant été décrite en détail, les exemples 15 non limitatifs suivants sont donnés à titre d'illustration.

EXEMPLE 1.

Préparation de microcapsules d'acide polylactique contenant de la progestérone.

On dissout une quantité de 2,5 g de progestérone et 10,0 20 g d'acide d,l-polylactique dans 38 g de chlorure de méthylène. On verse la solution visqueuse obtenue dans un ballon de 250 ml contenant 120 ml d'une solution aqueuse à 5 % en poids d'alcool polyvinyle. On agite la dispersion obtenue à environ 200 tours/minute jusqu'à formation d'une émulsion stable dont les gouttelettes ont un diamètre compris entre 50 et 100  $\mu\text{m}$ . On applique le 25 vide sur l'émulsion jusqu'à ce qu'elle commence à mousser, puis on réduit la vitesse d'agitation à 600 tours/minute. Après deux heures d'agitation, la plus grande partie du chlorure de méthylène ne s'est évaporée. Une agitation continue n'est pas d'ailleurs nécessaire pour empêcher l'agglomération des microcapsules embryonnaires. Après quoi, on centrifuge l'émulsion, on décante la 30 solution aqueuse d'alcool polyvinyle et on remet les microcapsules en suspension dans 150 ml d'eau désionisée. 18 heures après environ, on applique continuellement le vide sur la suspension aqueuse agitée, puis on centrifuge la suspension et lave à l'eau les microcapsules obtenues, avant de les réunir par filtration sous vide. On séche les microcapsules à la température ambiante sous un vide poussé, pendant une nuit, puis on tamise, grâce à quoi on obtient une fraction passant entre 43 et 61  $\mu\text{m}$ .

Par ce procédé, on obtient des microcapsules contenant 22 ± 1,5 % en poids de progestérone.

EXEMPLE 2.

Préparation de microcapsules de monostéarate de glycérol, contenant de la progestérone.

A 4 g de monostéarate de glycérol fondu, on ajoute 1,0 g de progestérone et on verse une partie du mélange fondu dans le réservoir d'un pulvérisateur à l'état fondu et chauffé à 167°C. Le débit de l'azote dans le dispositif pour le refroidissement est de 60 l/minute, alors que le débit de l'azote dans le pulvérisateur pour fournir le mélange fondu sous forme d'aérosol est réglé à une vitesse maximale de 5,75 l/minute. On pulvérise l'aérosol par intermittence et on recueille des microcapsules qu'on tamise, de façon à obtenir une fraction passant entre 43 et 61 µm. Les microcapsules obtenues par ce procédé sont sphériques et contiennent une charge théorique de 20 % en poids de progestérone.

EXEMPLE 3.

A 4 femelles babouins, on injecte des microcapsules d'acide d,l-polylactique contenant 7,87 mg de progestérone, alors qu'on traite 5 babouins avec des microcapsules d'acide d,l-polylactique contenant 7,87 mg de progestérone, administrées par voie intra-vaginale. On traite tous les babouins pendant 5 jours, puis on pratique des biopsies utérines le 12ème jour. On détermine également les taux journaliers dans le sang d'oestradiol et de progestérone. Les résultats des déterminations journalières sont rapportés sur les figures 11A et 11B, où la figure 11A représente le taux de progestérone et d'oestradiol pour l'injection intramusculaire des microcapsules tandis que la figure 11B représente les taux de progestérone et d'oestradiol pour l'administration vaginale des microcapsules. Il est évident que les concentrations de progestérone dans le sang sont plus élevées chez les babouins ayant reçu des injections intramusculaires que chez les babouins traités par administration vaginale. Il y a à ceci deux explications possibles : (1) une partie seulement des microcapsules placées dans le vagin demeure dans le corps pendant la période de traitement de 7 jours; (2) une partie seulement de la progestérone libérée des microcapsules après leur placement dans le vagin atteint le réseau sanguin. Ces deux possibilités

contribuent probablement aux différences entre les taux systématiques de progestérone observés pour les deux groupes de traitement. Si on considère seulement la fourniture systémique de progestérone et si la possibilité d'une fourniture locale directement à l'utérus chez les animaux traités par voie intravaginale est exclue, il est logique de s'attendre à un effet progestatif plus intense chez les babouins traités par injection que chez ceux traités par voie intravaginale. Les résultats de ces expériences de réponse aux doses confirment cette supposition.

10 Mais, un examen histologique comparatif des biopsies de l'endomètre des babouins ne vérifie pas cette hypothèse. L'examen histologique ne révèle aucune diminution significative dans le taux d'activité de sécrétion due à la progestérone chez des babouins traités par administration intravaginale, par rapport à ceux

15 traités par injection intramusculaire. Ceci est un peu inattendu étant donné la différence des taux systémiques de progestérone. Ces données apparemment contradictoires corroborent réellement la possibilité d'une fourniture locale de progestérone chez les babouins traités par voie intravaginale. Les figures 12a et 12b re-

20 présentent l'aspect histologique de l'endomètre d'un babouin traité par l'administration intravaginale de microcapsules contenant 7,87 mg de progestérone (tissu coloré H & E, agrandissement 20 et 100 fois, respectivement). Les figures 12c et 12d re-

25 présentent le même tissu (coloré PAS) agrandi 20 et 100 fois respectivement.

Une autre évidence histologique qui plaide en faveur de la fourniture locale de progestérone chez les animaux traités par voie intravaginale, résulte de l'observation que des altérations dues à la progestérone dans l'histologie de l'endomètre sont réparties de façon uniforme sur tout l'endomètre de babouins traités par des injections; alors que chez les babouins traités par dépôt intravaginal de microcapsules, les effets sont localisés et varient d'une glande à l'autre avec une intensité notable de stimulation dans les glandes superficielles juste en-dessous 30 de l'épithélium de la surface (figure 12). L'absence de vacuoles sous-nucléaires dans les glandes superficielles chez les babouins traités par injection et la présence abondante de vacuoles sous-nucléaires dans les glandes superficielles de babouins traités par voie intravaginale mettent en évidence la fourniture intra-

utérine locale de progestérone chez les babouins traités par voie intravaginale.

Un examen comparatif de la morphologie de l'épithélium de surface par microscopie électronique à balayage fournit une autre preuve des effets progestatifs localisés avec un traitement intravaginal avec les microcapsules. La figure 13 compare la morphologie de la surface de l'épithélium utérin de : l'endomètre normal d'un babouin non-traité, le 12ème jour (figure 13a); l'endomètre normal non-traité le 20ème jour (figure 13b); l'endomètre traité le 12ème jour (injection intramusculaire de microcapsules contenant 7,87 mg de progestérone, figure 13c); et l'endomètre traité le 12ème jour (dépôt intravaginal de microcapsules contenant 7,87 mg de progestérone, figure 13d).

La progestérone induit la formation de projections microvilloseuses distinctes sur la surface lumineuse des cellules épithéliales glandulaires. Les microvillosités ne sont pas normalement présentes avant l'ovulation (voir témoin le 12ème jour), mais deviennent tout à fait visibles après l'ovulation (voir témoin le 20ème jour). Un traitement continu à la progestérone entre les 5ème et 12ème jours induit la formation de nombreuses projections microvillouseuses. Les microvillosités apparaissent selon une distribution uniforme sur les surfaces de l'épithélium de babouins traités par injection. Mais, chez les babouins traités par voie intravaginale, les microvillosités se forment par plaques distinctes. La distribution hétérogène par plaques des microcapsules se produit entre des surfaces dans lesquelles les cellules épithéliales ne sont pas recouvertes de microvillosités et d'autres surfaces dans lesquelles les microvillosités ont des dimensions variables. Cette distribution hétérogène d'une altération produite par la progestérone dans la morphologie de l'épithélium de surface est indicatrice de zones localisées de stimulation par la progestérone. Après une fourniture systémique, toutes les zones de l'endomètre reçoivent une dose uniforme de médicament, alors qu'avec une fourniture locale, certaines zones peuvent recevoir des doses plus fortes ou plus faibles selon l'endroit où sont logées les microcapsules dans l'utérus.

Les figures 14A et 14B comparent les taux moyens de progestérone et d'oestradiol chez des babouins traités par injection intramusculaire (figure 14A) ou administration intravaginale (fi-

gure 14B) avec une dose de microcapsules contenant 1,57 mg de progestérone dans les conditions décrites ci-dessus. Cette faible dose de microcapsules a un léger effet inhibiteur sur les taux d'oestradiol lors de l'administration par injection et n'exerce aucun effet lors d'une administration intravaginale. De la progestérone exogène est présente en de faibles taux dans le sang entre les 5ème et 12ème jours chez des babouins traités par injection. Mais, chez des babouins traités par voie intravaginale, on ne peut pas détecter de progestérone exogène dans le sang, entre les 5ème et 12ème jours, dans les limites de sensibilité de la technique d'essai.

A partir des données comparatives sur les hormones illustrées sur la figure 14 et, en excluant la possibilité pour une fourniture locale, il semble logique de supposer que l'histologie de l'endomètre des babouins traités par voie intravaginale ressemble au modèle observé chez des témoins normaux non-traités. Cette supposition s'appuie sur le fait que les taux dans le sang de progestérone et d'oestradiol chez les babouins traités par voie intravaginale avec la faible dose de microcapsules, sont identiques à ceux trouvés normalement. En conséquence, d'après les données de sécrétion interne, il y a peu de raison de s'attendre à des altérations par les hormones dans l'histologie de l'endomètre. Mais, le même raisonnement ne peut pas s'appliquer aux animaux traités par injection, car après le traitement ou a déterminé des taux de progestérone décelables dans le sang entre les 5ème et 12ème jours. De plus, les taux d'oestradiol semblent être un peu réduits par rapport aux témoins normaux. De nouveau, les données histologiques sont contraires aux résultats attendus. En dépit de l'absence de progestérone systémique mesurable chez les babouins traités par voie intravaginale, l'endomètre montre des effets progestatifs distincts.

Un examen de la morphologie de l'épithélium de surface par microscopie électronique à balayage révèle la présence fréquente de microvillosités, preuve évidente de la stimulation par la progestérone, tel que représenté sur la figure 15. En particulier, les figures 15a et 15b sont des microphotographies peu agrandies (9600) et très agrandies (18 240) de l'épithélium de surface d'un babouin traité, le 12ème jour du cycle menstruel. La figure 15c est une microphotographie de l'épithélium qui mon-

tre des microcapsules contenant de la progestérone sur la surface de l'épithélium, alors que la figure 15d est une microphotographie des microcapsules elles-mêmes. Bien que les altérations dans l'histologie de l'endomètre, provoquées par la progestérone, 5 puissent être une réponse à la progestérone systémique dont le taux trop faible ne peut être mesuré par la méthode d'essai utilisée, une explication plus plausible est que les changements dûs à la progestérone résultent d'une fourniture intra-utérine locale, directe, de progestérone.

10 Le point le plus important à souligner est qu'avec une faible dose de microcapsules (c'est-à-dire 7,87 mg de progestérone), on a observé des changements de sécrétion dans l'endomètre. De plus, une réponse de la dose, associée aux changements, 15 a été observée, suggérant qu'en augmentant la dose, il est possible d'obtenir un effet suffisant pour inhiber la fonction reproductive.

Les figures 16A et 16B comparent les tracés de l'activité contractile musculaire cervicale chez deux babouins, le même jour du cycle menstruel. Pour mesurer le tracé des contractions 20 cervicales, tel que représenté sur les figures, on a utilisé un transducteur spécial, conçu tel que décrit par W.D. Blair et L.R. Beck dans "Ovum Transport and Fertility Regulation, 1976, pp. 41-74, Scriptor Publication (Copenhague), qu'on a placé dans le col de chaque babouin. On a relié le transducteur à un enregistreur 25 à bande. La figure 16A montre les résultats obtenus chez un babouin traité en plaçant des microparticules contenant de l'oestradiol dans le vagin, alors que la figure 16B montre les résultats obtenus chez un babouin témoin n'ayant pas reçu de microparticules. Les résultats démontrent que le traitement stimule à la 30 fois la fréquence et l'amplitude des contractions cervicales. Ces contractions provoquent le déplacement des microparticules dans le système.

L'invention ayant été décrite en détail, on comprendra que l'on peut procéder à des modifications sans sortir de son 35 cadre.

REVENDICATIONS

1. Microparticules renfermant un antigène ou un anticorps pour l'immunisation active ou passive des organes reproducteurs femelles internes, caractérisées en ce qu'elles contiennent une quantité d'antigène ou d'anticorps suffisante pour provoquer une réponse, incorporé dans un matériau de matrice qui est biocompatible et biodégradable, lesdites microparticules étant capables d'être acheminées, après dépôt dans le vagin, par le mécanisme naturel des organes reproducteurs femelles internes, à travers le col jusqu'au <sup>10</sup> utérus.

2. Microparticules selon la revendication 1, caractérisées en ce que lesdites microparticules ont une dimension comprise entre 20 et 70  $\mu\text{m}$  et le matériau de matrice est l'acide polylactique, l'acide polyglycolique ou des copolymères des acides glycolique et lactique.

3. Microparticules selon la revendication 1, caractérisées en ce que lesdites microparticules contiennent de 10 à 60 % en poids d'antigène ou d'anticorps.

4. Microparticules selon la revendication 1, caractérisées en ce que l'antigène dérive d'un pathogène bactérien ou viral et l'anticorps est un anticorps qui répond à un antigène d'un pathogène viral ou bactérien.

5. Microparticules selon la revendication 1, caractérisées en ce que lesdites microparticules sont formulées en une composition sous forme de suppositoire, de crème, de gelée, de mousse ou d'un liquide avec un excipient pharmaceutiquement compatible.

6. Microparticules selon la revendication 1 contenant un agent contraceptif capable d'être acheminé par le mécanisme de transport naturel des organes reproducteurs femelles internes dans au moins l'utérus, caractérisées en ce qu'elles comprennent une hormone de réglage du cycle et un agent contraceptif incorporés dans un matériau de matrice sous forme de microparticules qui possèdent une activité de suppléant du sperme à condition que, lorsque l'agent contraceptif est une hormone, l'hormone contraceptive et les hormones de réglage du cycle soient différentes, l'hormone de réglage du cycle étant capable de stimuler le mécanisme de transport naturel après le dépôt des microparticules dans le vagin.

7. Microparticules selon la revendication 6, caractérisées en ce que leur dimension est comprise entre 20 et 70<sub>um</sub> et le matériau de matrice biodégradable et biocompatible est un polymère choisi parmi l'acide polyglycolique, l'acide polylactique et leurs mélanges.

8. Microparticules selon la revendication 6, caractérisées en ce que le composé induisant le transport est un oestrogène ou une progestine.

9. Microparticules selon la revendication 6, caractérisées en ce que l'agent contraceptif est une hormone choisie parmi la progestérone, l'oestradiol, la noréthindrone, le norgestrel, l'éthynodiol diacétate, le lynestrénol, le médroxyprogesterone acétate, la diméthistérone, le mégestrol acétate, le chlormadinone acétate, l'éthynodiol et le mestranol.

10. Procédé pour provoquer activement ou passivement une réponse d'immunisation des organes reproducteurs femelles internes, caractérisé en ce qu'il consiste à déposer dans le vagin des microparticules contenant un antigène ou un anticorps et à permettre au mécanisme de transport naturel des organes d'acheminer les microparticules à travers le col dans l'utérus et les trompes de Fallope, auquel cas l'antigène est libéré par les microparticules.

11. Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce que les microparticules ont une dimension comprise entre 20 et 70<sub>um</sub> et le matériau de matrice est l'acide polylactique, l'acide polyglycolique ou leurs mélanges.

12. Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce que l'antigène est d'origine bactérienne ou virale.

13. Procédé d'immunisation passive ou active des organes reproducteurs femelles internes, caractérisé en ce qu'il consiste à déposer dans le vagin des microparticules contenant un anticorps ou un antigène et une hormone de réglage du cycle menstruel, à stimuler le mécanisme de transport naturel des organes reproducteurs internes par absorption de l'hormone libérée à part des microparticules; et à permettre au mécanisme de transport d'acheminer les microparticules par le col dans l'utérus et les trompes de Fallope par des forces supplémentaires le sperme, grâce à quoi l'anticorps est libéré à partir des microparticules.

14. Procédé selon la revendication 13, caractérisé en ce

que l'hormone de réglage du cycle menstruel est une progestine ou un oestrogène.

15. Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce que l'antigène est d'origine bactérienne ou virale.

5        16. Procédé de reproduction d'un cycle menstruel chez un hôte femelle, en administrant un anticorps ou un antigène dans les organes reproducteurs femelles internes, caractérisé en ce qu'il consiste à déposer des microparticules contenant un oestrogène dans le vagin où l'oestrogène est constamment libéré, 10 reproduisant ainsi les 1er au 14ème jours de la phase oestrale du cycle menstruel et rendant le col de plus en plus capable de transporter les microparticules, à déposer des microparticules contenant une progestine dans le vagin où la progestine est libérée après le premier jour jusqu'au 28ème jour du cycle menstruel, reproduisant ainsi la phase progestative du cycle et à déposer des microparticules contenant un antigène ou un anticorps dans le vagin dans un temps suffisant, pour le transport maximum des microparticules contenant un antigène ou un anticorps entre les 12ème et 16ème jours du cycle, par le col dans l'utérus et 20 les trompes de Fallope, où l'antigène ou l'anticorps est libéré.

17. Procédé de reproduction d'un cycle menstruel chez un hôte femelle selon la revendication 16, par administration d'un agent contraceptif dans les organes reproducteurs femelles internes, caractérisé en ce qu'il consiste à déposer des microparticules contenant un oestrogène dans le vagin où l'oestrogène est continuellement libéré, reproduisant ainsi les 1er au 14ème jours de la phase oestrale du cycle menstruel et rendant le col de plus en plus capable de transporter les microparticules, à déposer des microparticules contenant une progestine dans le vagin où la progestine est libérée après le premier jusqu'au 28ème jour du cycle, reproduisant ainsi la phase progestative du cycle, et à déposer des microparticules contenant l'agent contraceptif dans le vagin en un temps suffisant pour le transport maximal des microparticules contenant l'agent contraceptif entre les 35 12ème et 16ème jours du cycle, à travers le col dans l'utérus et les trompes de Fallope où l'agent contraceptif est libéré.

18. Procédé selon la revendication 17, caractérisé en ce que l'oestrogène est libéré à partir des microparticules à un taux de 0,1 à 1 mg par jour, et la progestine est libérée à un

taux de 0,5 à 2 mg par jour.

19. Procédé de stimulation du mécanisme de transport naturel des organes reproducteurs internes en administrant un agent contraceptif dans les organes internes, caractérisé en ce qu'il consiste à déposer dans le vagin des microparticules d'acide polylactique dans lesquelles est dispersée la progestérone, à permettre la libération de la progestérone à partir des microparticules pour stimuler le mécanisme de transport naturel pour acheminer les microparticules par le col dans l'utérus et à permettre la libération ultérieure de la progestérone à partir des microparticules dans le col et par l'utérus jusque dans les trompes de Fallope, en une quantité suffisante pour obtenir l'effet contraceptif désiré.

20. Application d'un agent contraceptif à l'utérus et aux trompes de Fallope, caractérisée en ce qu'elle consiste à déposer dans le vagin une quantité contraceptivement efficace de microparticules ayant une activité de suppléant du sperme, comprenant un agent contraceptif et un matériau de matrice biodégradable et biocompatible, et à permettre au mécanisme de transport naturel des organes reproducteurs internes d'acheminer les microparticules par le col dans l'utérus, grâce à quoi l'agent contraceptif est directement fourni à l'utérus et aux trompes de Fallope par libération de l'agent contraceptif à partir des microparticules.

25 21. Application selon la revendication 20, caractérisée en ce que les microparticules sont déposées dans le vagin avant le milieu du cycle menstruel, et l'agent contraceptif est la progestérone ou l'oestradiol.

22. Application selon la revendication 20, caractérisée en ce que de 0,10 à 1,0 mg par jour de l'agent contraceptif est libéré dans les organes reproducteurs internes.

23. Application d'un agent contraceptif à l'utérus et aux trompes de Fallope selon la revendication 20, caractérisée en ce qu'elle consiste à déposer dans le vagin une quantité contraceptivement efficace de microparticules ayant une activité de suppléant du sperme, lesdites microparticules comprenant un agent contraceptif et une hormone de réglage du cycle dans un matériau de matrice biodégradable et biocompatible, à condition que, l'hormone soit différente de l'agent contraceptif lorsque ce derni-

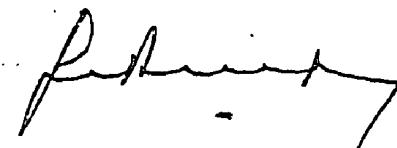
S1. 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3

er est une hormone, et à permettre aux microparticules de libérer continuellement l'hormone de réglage du cycle en une quantité suffisante pour stimuler le mécanisme de transport naturel des organes reproducteurs internes par le col dans l'utérus et les trompes de Fallope, et grâce à quoi la libération de l'agent contraceptif a lieu, lorsque les microparticules traversent le col, dans l'utérus et les trompes de Fallope.

24. Application selon la revendication 23, caractérisée en ce que les microparticules sont déposées dans le vagin avant le milieu du cycle menstruel.

25. Application selon la revendication 20, caractérisée en ce que l'hormone de réglage du cycle menstruel est une progestine ou un oestrogène.

Bruxelles, le 16 octobre 1979  
P.Pon.de STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION  
OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER.



STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION

© 1979  
Stolle Research & Development Corporation

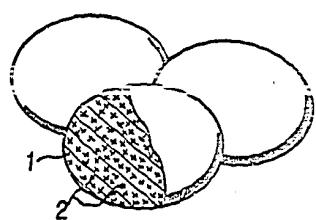


FIG. 1

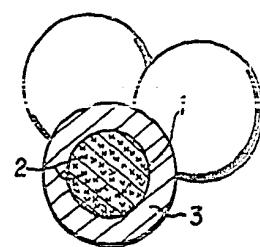


FIG. 2

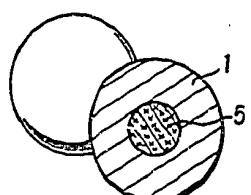


FIG. 3

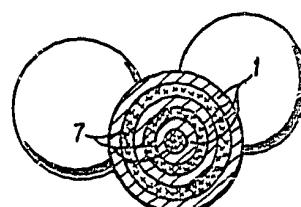


FIG. 4

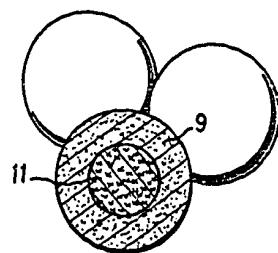


FIG. 5

Bruxelles, le 16 octobre 1979  
P.Pon de STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION  
OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER.

*[Handwritten signature]*

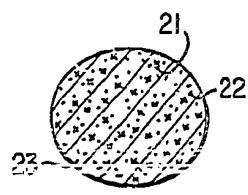


FIG. 6

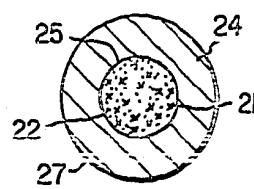


FIG. 7

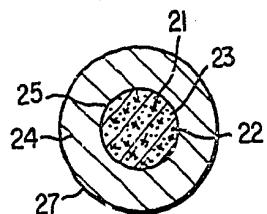


FIG. 8

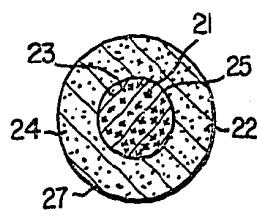


FIG. 9

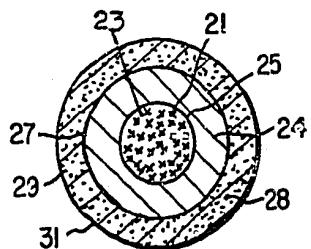


FIG. 10

Bruxelles, le 16 octobre 1979  
P. Pon de STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION  
OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER.

STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION

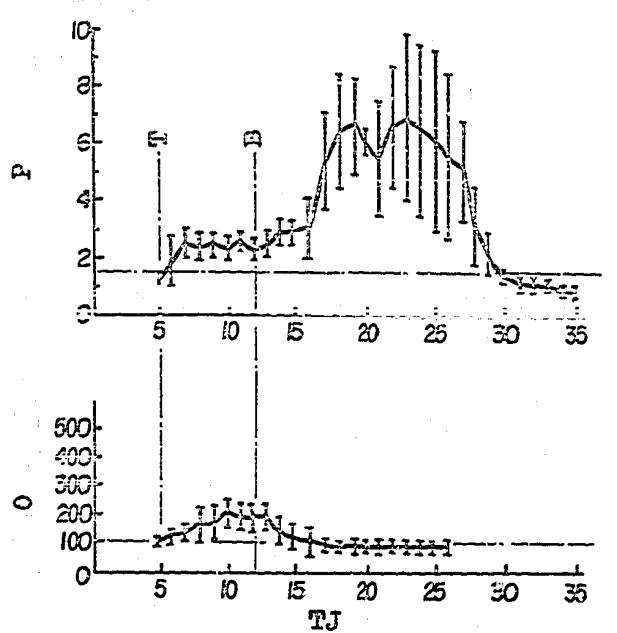


FIG.11A TA

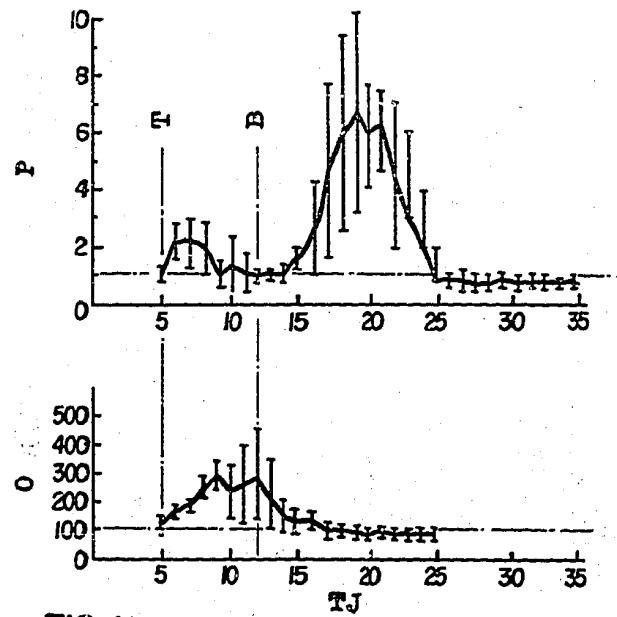


FIG.11B TB

Bruxelles, le 16 octobre 1979  
P.Pon de STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION  
OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER.

*John*

STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION

373412

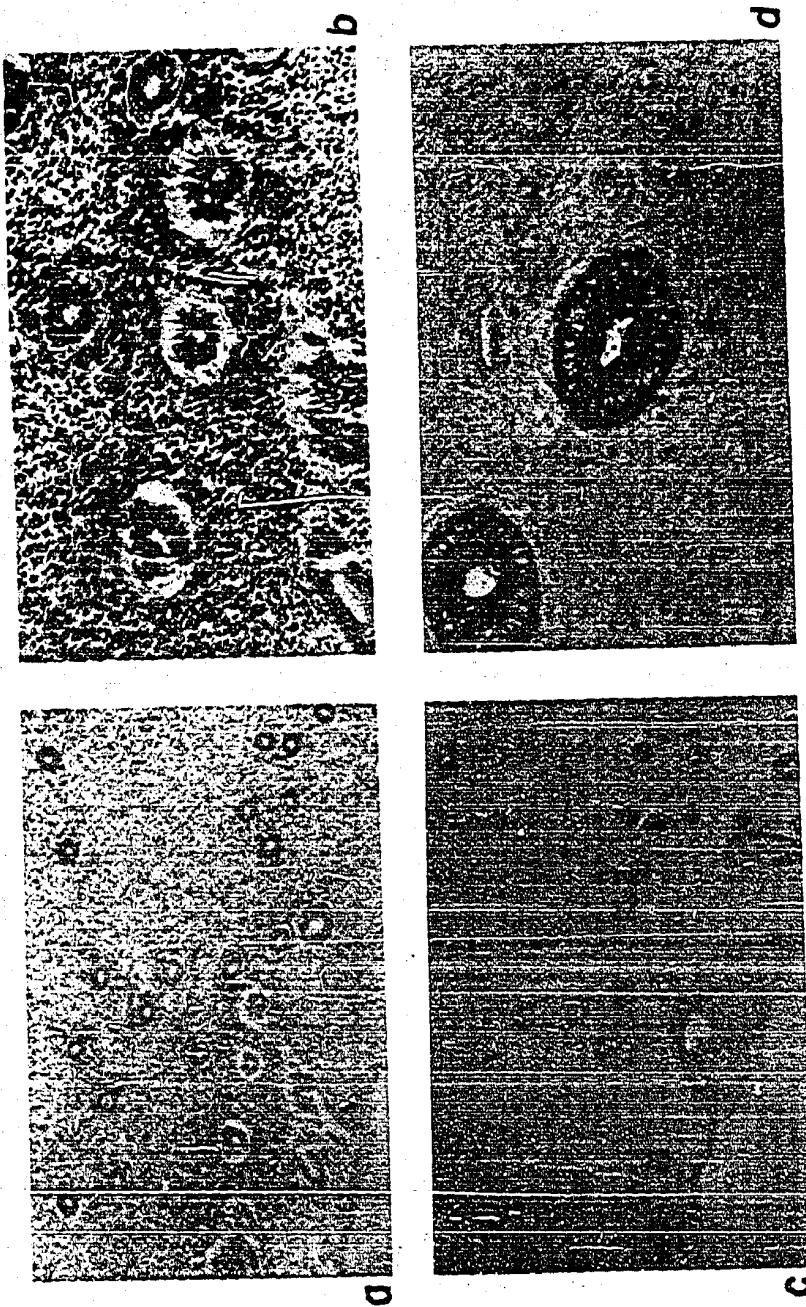


FIG. 12

Bruxelles, le 16 octobre 1979  
P.Pon de STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION  
OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER.

*Plucker*

STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION

07942

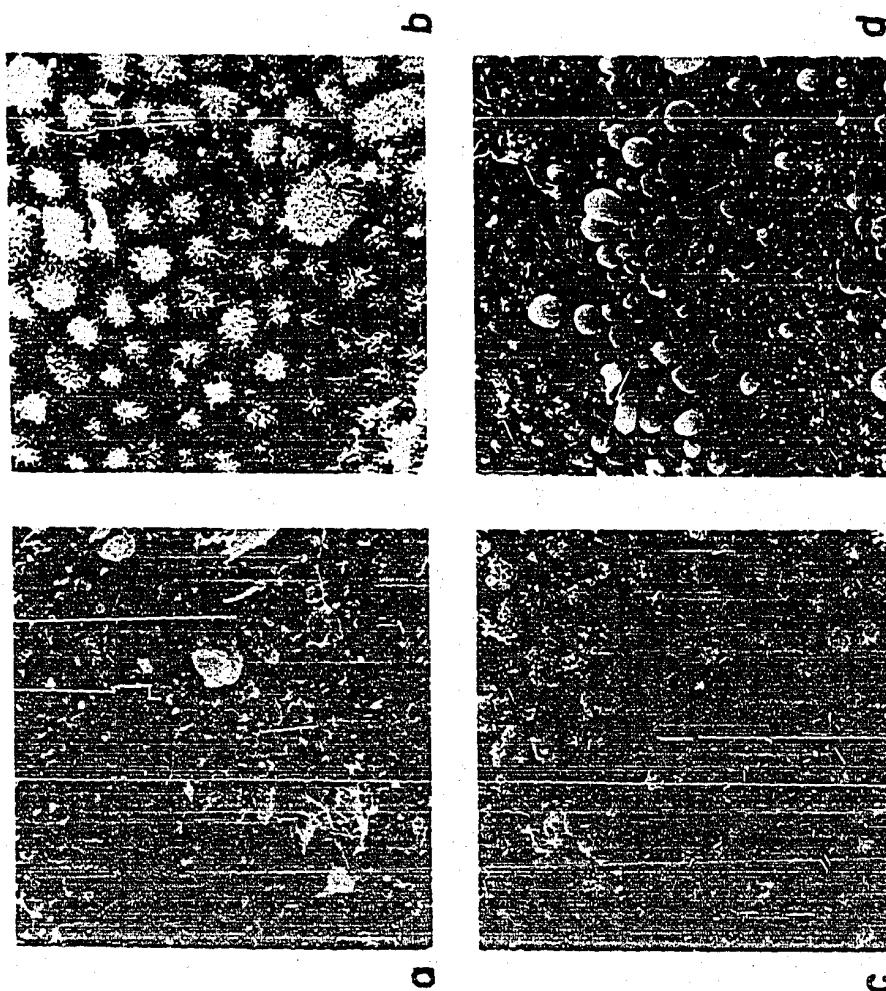


FIG. 13

Bruxelles, le 16 octobre 1979  
P. Pon de STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION  
OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER.

*Fiducial*

879842

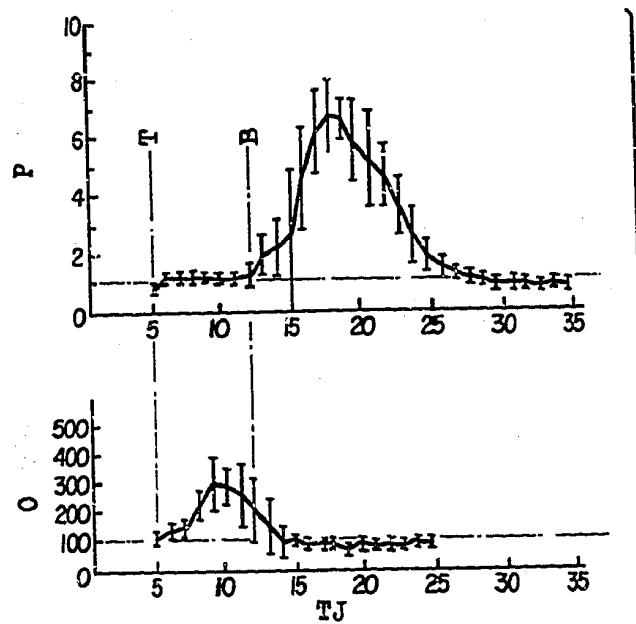


FIG. 14 A TA

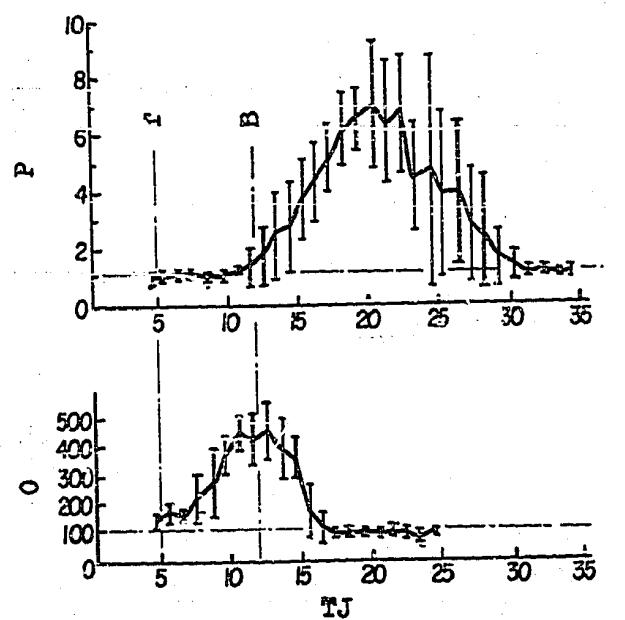


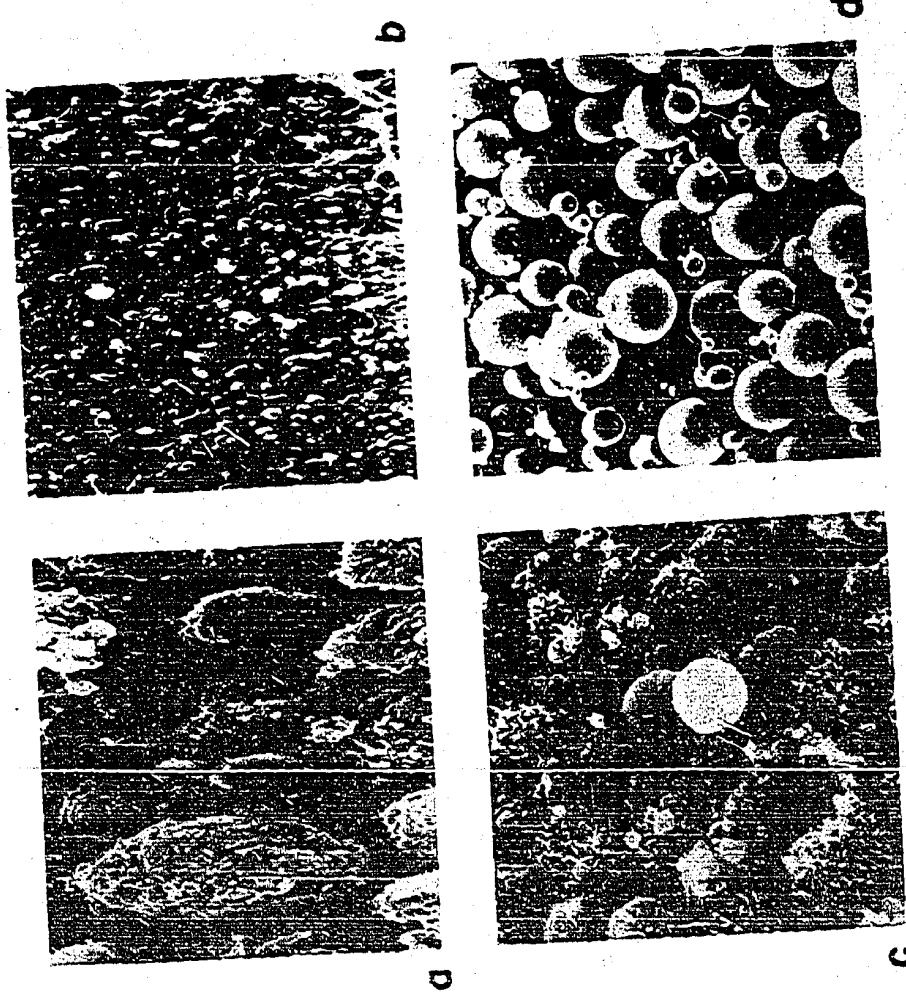
FIG. 14 B TB

Bruxelles, le 16 octobre 1979  
 P.Pon de STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION  
 OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "P. Pon de".

STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION

37344



15  
EIG.

Bruxelles, le 16 octobre 1979  
P.Pon.de STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION  
OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER.

STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION

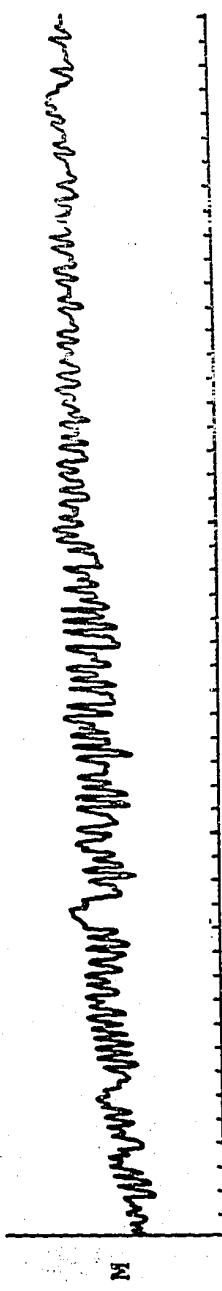
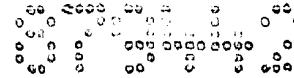


FIG.16 A

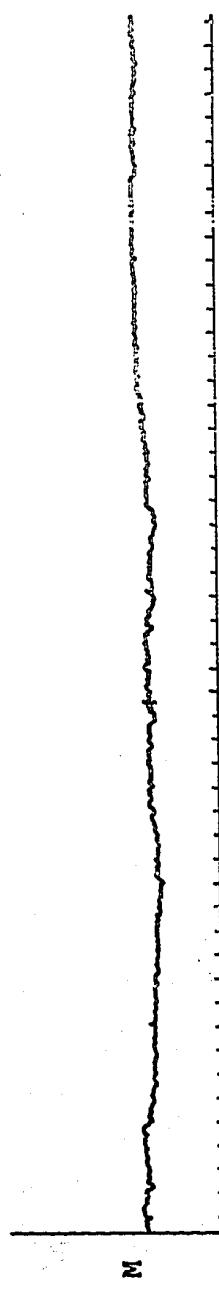


FIG.16 B

Bruxelles, le 16 octobre 1979  
P.Pon de STOLLE RESEARCH AND DEVELOPMENT CORPORATION  
OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER.