



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

UIBM

DOMANDA NUMERO	101997900596935
Data Deposito	16/05/1997
Data Pubblicazione	16/11/1998

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

PROCEDIMENTO PER L'INCAPSULAMENTO QUANTITATIVO DI SOSTANZE IDROSOLUBILI
ALL'INTERNO DI LIPOSOMI, LIPOSOMI COSÌ OTTENUTI E FORMULAZIONI
FARMACEUTICHE CHE LI CONTENGONO

RM 97 A 0293

SIB 91283

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal
titolo:

"PROCEDIMENTO PER L'INCAPSULAMENTO QUANTITATIVO DI
SOSTANZE IDROSOLUBILI ALL'INTERNO DI LIPOSOMI,
LIPOSOMI COSI' OTTENUTI E FORMULAZIONI
FARMACEUTICHE CHE LI CONTENGONO"

della ditta Italiana IDI Farmaceutici S.p.A.

con sede a POMEZIA (ROMA)

O-O-O-O

DESCRIZIONE

La presente invenzione si riferisce ad un
procedimento per l'incapsulamento quantitativo di
sostanze idrosolubili all'interno di liposomi, ai
liposomi così ottenuti e a formulazioni
farmaceutiche contenenti detti liposomi.

I liposomi sono vescicole microscopiche di
dimensioni variabili (da qualche nanometro ad
alcuni micrometri) formati artificialmente da
miscele fosfolipidiche, componenti fisiologici
delle membrane di rivestimento cellulare, sia
animale che vegetale (vedi riferimenti
bibliografici n° 16, 17 e 18). La loro importanza
è strettamente legata alla struttura

S.I.B.
ROMA

tridimensionale, a sua volta dovuta alla particolare composizione chimica dei suoi componenti: i fosfolipidi. Questi composti biologici, di natura lipidica, sono costituiti essenzialmente da esteri della glicerina in cui un gruppo ossidrile è esterificato da un gruppo ortofosforico e gli altri due ossidrili sono esterificati da acidi grassi a catene più o meno lunghe e ramificate. La porzione fosforica è caratterizzata dal fatto di essere carica elettrostaticamente ed è pertanto altamente polare quindi idrofila, mentre le catene idrocarburiche sono invece altamente idrofobiche. Questi composti, in ambiente acquoso e in funzione della loro concentrazione relativa al solvente, formano spontaneamente strutture vescicolari che espongono la testa polare ad altre teste polari (strati multipli) o all'acqua contrapponendo, e pertanto mascherando all'acqua, le porzioni idrofobiche. In pratica si tratta di strutture uni- oppure multilamellari nelle quali si formano uno oppure più doppi strati concentrici, ciascun doppio strato essendo a sua volta formato da due singoli strati nei quali le teste polari sono rivolte verso la fase idrofilica, mentre le code

idrofobiche sono in contatto reciproco in modo tale che l'acqua una volta formato il liposoma non possa penetrare all'interno. Una interessante applicazione di questi liposomi è quella per la quale sia le sostanze idrofobiche (fra le code idrofobiche) sia le sostanze idrofiliche (nel volume acquoso intrappolato all'interno dei liposomi come fra le diverse lamelle concentriche) possono essere da essi veicolate. Inoltre di notevole importanza è il fatto che la derivazione chimica naturale dei fosfolipidi delle membrane biologiche fa sì che i liposomi possono essere riassorbiti dall'epidermide fino negli strati più profondi.

Per le motivazioni appena esposte, i liposomi, allo stato attuale della tecnica, vengono utilizzati in cosmetica come coprincipi o come veicoli. Sono inoltre descritti nello stato della tecnica liposomi contenenti principi attivi farmaceutici per applicazioni sia di tipo sistemico che di tipo dermatologico.

Appartengono allo stato della tecnica vari procedimenti per la produzioni di liposomi e per l'incapsulamento di varie sostanze nel loro interno.

Il brevetto europeo 254691 descrive un procedimento che può essere schematizzato come segue

a) solubilizzazione dei fosfolipidi e di un eventuale principio attivo lipofilo in un solvente organico;

b) solubilizzazione degli elettroliti e dell'eventuale principio attivo idrofilo in un solvente acquoso; e

c) aggiunta, sotto continua omogeneizzazione, della soluzione a alla soluzione b) allo scopo di ottenere una emulsione omogenea tra le due fasi.

Nel brevetto EP n° 461 333, viene descritto un metodo comprendente gli stadi seguenti:

a) solubilizzazione dei principi attivi idrofili in acqua,

b) aggiunta e solubilizzazione degli elettroliti nella soluzione precedentemente preparata; e

c) aggiunta sotto continua omogeneizzazione di lecitina di soia in granuli ed eventuali principi attivi lipofili alla soluzione acquosa allo scopo di produrre in situ i liposomi contenenti principi attivi e ottenere pertanto una emulsione omogenea tra le due fasi.

Va sottolineato che entrambi i procedimenti appena descritti non consentono di garantire che le sostanze attive incorporate si trovino esclusivamente all'interno dei liposomi. Ciò è vero in particolare per quanto riguarda la sostanza idrofila in quanto ottenendosi, alla fine, una emulsione omogenea a fase continua acquosa la sostanza idrofila può al momento dell'emulsione distribuirsi sia nella fase acquosa interna sia in quella esterna e ciò provoca inconvenienti nel dosaggio dei farmaci. Laddove infatti si rende necessaria per qualsivoglia motivo (protezione del farmaco da fenomeni di degradazione, azione di lento rilascio del farmaco, minimizzazione degli effetti collaterali, altri) una incapsulazione del farmaco nei liposomi, è necessario o quantomeno auspicabile che questa sia di tipo quantitativo (percentuale di incapsulazione $\geq$ a 90 %), per ottenere il massimo dell'azione desiderata. Opzioni diverse caratterizzate da un'incapsulazione non quantitativa sono accettabili quando risultino essere un limite tecnologico oggettivamente invalicabile e/o quando consentano di ottenere, seppure parzialmente, l'effetto desiderato.

E' stato ora sorprendentemente trovato che utilizzando un procedimento nel quale viene realizzata una tripla emulsione è possibile ottenere l'incapsulamento quantitativo di sostanze idrosolubili all'interno dei liposomi.

Forma pertanto oggetto della presente invenzione un procedimento per l'incapsulamento quantitativo di sostanze idrosolubili, all'interno di liposomi caratterizzato dal fatto di comprendere gli stadi seguenti:

a) solubilizzazione di fosfolipidi in un solvente organico;

b) solubilizzazione in acqua di almeno una di dette sostanze idrosolubili, la quantità di acqua impiegata essendo la minima per consentire la solubilizzazione di almeno una sostanza idrosolubile;

c) aggiunta, sotto energico agitazione, della soluzione ottenuta dallo stadio b) alla soluzione ottenuta dallo stadio a), per cui viene ottenuta una emulsione a fase inversa, la cui fase continua è costituita da fosfolipidi in detto solvente organico, e la cui fase interna è costituita da acqua contenente detto almeno una sostanza idrosolubile; e

d) aggiunta, sotto energico agitazione, dell'emulsione ottenuta dallo stadio c) ad una soluzione acquosa di elettroliti, per cui si ottiene una emulsione tripla a fase esterna acquosa, detta almeno una sostanza idrosolubile essendo contenuta sostanzialmente solo nella fase acquosa interna.

Nel procedimento secondo la presente invenzione la soluzione ottenuta dallo stadio b), viene impiegata in quantità generalmente compresa tra 30 e 50 % in peso rispetto alla soluzione ottenuta dallo stadio a).

Il procedimento viene condotto ad un pH compreso tra 6 a 8; lo stadio d) dello stesso procedimento viene condotto a temperature tra 20 e 40°C e per un tempo compreso tra 1 e 4 ore.

Come solventi possono essere vantaggiosamente impiegati l'etanolo, il glicole pentilenico, la glicerina il dimetilisorbato e/o tutti quei solventi accettati per l'uso farmaceutico cosmetico che siano in grado di sciogliere le lecitine; in modo preferito vengono usati l'etanolo e vari tipi di glicole.

Fra le sostanze idrosolubili da impiegare che possono essere incapsulate secondo il procedimento della presente invenzione si possono citare:

Minoxidil solfato, Nicotinammide, piridinol-carbammato, Vitamina C e/o altre vitamine idrosolubili, antibiotici, cortisonici, antimicotici, cardiovascolari, altri principi attivi farmaceutici e/o sostanze di interesse cosmetico idrosolubili come tali e/o in forma di derivato.

Nello stadio a) secondo il procedimento della presente invenzione si è dimostrato inoltre particolarmente vantaggioso l'impiego, come fosfolipide, di fosfatidilcolina e dell'aggiunta di un agente co-stabilizzante, in modo particolare colesterolo. Nel procedimento secondo la presente invenzione può in particolare venire vantaggiosamente impiegato per la introduzione di Minoxidil, sotto forma di Minoxidil solfato, all'interno dei liposomi.

Il Minoxidil (6-(1-piperidinil)-2,4-pirimidindiammina-3-ossido) è un farmaco antiipertensivo ad azione vasodilatatoria impiegato in tricologia per favorire la ricrescita del capello attraverso un effetto osservabile sul

microcircolo del cuoio capelluto. Tuttavia è noto dallo stato della tecnica che questa applicazione è accompagnata da un assorbimento percutaneo del farmaco con conseguenti effetti sistemici sulla pressione sanguigna. (Riferimenti 1-15)

Sono noti dallo stato della tecnica vari prodotti per uso tricologico contenenti il Minoxidil in soluzione alla concentrazione del 2 % in volume (parti a 20 mg/20 ml) ed eccipienti costituiti di volta in volta da glicole propilenico, alcool etilico, acqua depurata o altri in quantità tale da raggiungere una formulazione di 100 ml (riferimenti 1, 5, 7, 9). Tali prodotti sono indicati dal trattamento sintomatico dell'alopecia androgenica per la quale l'esperienza clinica maturata indica che possono essere necessarie applicazioni bigiornaliere della durata di 3-4 mesi prima che vi siano evidenti segni di crescita (o di ricrescita) dei capelli (riferimenti 2, 3). Non si conosce l'efficacia di tali prodotti in malattie diverse dall'alopecia androgenica quali ad esempio alopecia congenita localizzata o generalizzata, alopecia cicatriziale di varia natura (post-traumatica, di origine psichica o infettiva), alopecia acuta diffusa da

sostanze tossiche, da medicinali in cui la ricrescita dei capelli è condizionata dalla soppressione della causa specifica, area celsi.

La tollerabilità e l'efficacia dei prodotti a base di Minoxidil in soluzione per uso topico al 2 % non è stata verificata nei pazienti in età inferiore a 18 anni e nei pazienti in età superiore a 55 anni. E' noto tuttavia che il loro impiego è controindicato in presenza di coronopatie, aritmie, scompenso cardiaco congestizio o valvulopatie. In presenza di altri disturbi cardiovascolari l'impiego di questi prodotti contenenti a base di Minoxidil è subordinato al giudizio del medico. I pazienti effetti da ipertensione, inclusi quelli in trattamento per tale patologia devono essere tenuti sotto stretto controllo medico (riferimento n° 15). Durante l'impiego di questi prodotti a base di Minoxidil si verifica inoltre un certo assorbimento della stessa sostanza attraverso il cuoio capelluto (valore medio: 1,4 %) ed esiste il rischio per insorgenza di effetti sistemici quali tachicardia, angina, pericardite, effusione pericardica, tamponamento cardiaco o aumento dell'ipotensione ortostatica indotta da farmaci

antiipertensivi come la guanetidina e derivati. In ogni caso, nei pazienti destinati ad essere trattati con composizioni a base di Minoxidil, è sempre consigliabile eseguire un controllo periodico per individuare ogni sospetto in effetti sistemici dello stesso Minoxidil.

D'altro canto gli interventi formulativi relativi all'uso del Minoxidil in tricologia sono recentemente indirizzati verso l'ottenimento di un più evidente e duraturo effetto sulla ricrescita del capello. Da un lato, come del resto evidenziato in letteratura (vedi l'Informatore Farmaceutico, 1996), si è quindi aumentata la concentrazione del farmaco fino a 5 % d'altro lato mantenendo formulazioni a concentrazione del 2 % si sono realizzate formulazioni in gel di tipo liposomico con obiettivo di favorire un più duraturo contatto del prodotto con il capello o con la cute (riferimenti 1, 5, 7 e 9). Nessuno dei due esempi precedenti risolve o affronta il problema degli effetti sistemici dovuti all'assorbimento percutaneo del farmaco. Sono al contrario note e documentate alterazioni del quadro sistemico che sono più evidenti nei prodotti a più alta concentrazione, più alta

concentrazione peraltro non accompagnata da un parallelo aumento di attività del cuoio capelluto.

Era pertanto sentito nello stato della tecnica il bisogno di ottenere una formulazione liposomica a base di Minoxidil che fosse da un lato in grado di migliorare l'attività del farmaco sulla ricrescita del cuoio capelluto, ma d'altro canto e contemporaneamente anche di eliminare ogni tipo di disturbo sistemico indesiderato (riferimento n° 18).

E' stato ora sorprendentemente trovato che un procedimento nel quale viene realizzata una tripla emulsione per la produzione di liposomi e che impiega il Minoxidil sotto forma di un suo composto idrosolubile riesce a superare gli inconvenienti noti dallo stato della tecnica.

Forma pertanto ulteriore oggetto della presente invenzione un procedimento per l'incapsulamento quantitativo di Minoxidil, sotto forma di un suo composto idrosolubile, all'interno di liposomi caratterizzato dal fatto di comprendere gli stadi seguenti:

- a) solubilizzazione di fosfolipidi in un solvente organico;
- b) solubilizzazione in acqua di Minoxidil,

sotto forma di un suo composto idrosolubile, la quantità di acqua impiegata essendo la minima per consentire la solubilizzazione di detto Minoxidil idrosolubile;

c) aggiunta, sotto energico agitazione, della soluzione ottenuta dallo stadio b) alla soluzione ottenuta dallo stadio a), per cui viene ottenuta una emulsione a fase inversa la cui fase continua è costituita da fosfolipidi in detto solvente organico, e la cui fase interna è costituita da detto Minoxidil disciolto in acqua; e

d) aggiunta, sotto energico agitazione, dell'emulsione ottenuta dallo stadio c) ad una soluzione acquosa di elettroliti per cui si ottiene una emulsione tripla a fase esterna acquosa, detto Minoxidil essendo contenuto sostanzialmente solo nella fase acquosa interna.

Nel procedimento secondo la presente invenzione la soluzione ottenuta dallo stato b) viene impiegata in quantità da 30 a 50 % in peso rispetto alla soluzione ottenuta dallo stadio a).

Il procedimento viene condotto ad un pH compreso tra 6 a 8; lo stadio d) viene condotto a temperature tra 20 e 40°C e per un tempo compreso tra 1 e 4 ore.

Come solventi possono essere vantaggiosamente impiegati l'etanolo, il glicole pentilenico, la glicerina il dimetilisorbato e/o tutti quei solventi accettati per l'uso farmaceutico cosmetico che siano in grado di sciogliere le lecitine; in modo preferito vengono usati l'etanolo e vari tipi di glicole.

Va sottolineato in questo caso che, nei confronti nello stato della tecnica, i liposomi contenenti Minoxidil sotto forma di un composto idrosolubile vengono formati attraverso l'ottenimento di una tripla emulsione del tipo acqua/olio/acqua (con fase esterna acquosa) con un effetto di incapsulamento totale e stabile del farmaco che risulta essere trattenuto nella fase acquosa interna delle vescicole liposomiche dalle quali la fuoriuscita è resa impossibile grazie all'elevato effetto barriera del doppio strato lipidico circostante. L'ottenimento della tripla emulsione passa attraverso la realizzazione di una prima emulsione a fase inversa e successiva omogeneizzazione con una soluzione elettrolitica che porta all'ottenimento di tre fasi descritte nel seguito:

1. Fase interna: fase acquosa contenente

Minoxidil disciolto sotto forma di un suo composto idrosolubile;

2. Fase intermedia: livelli multipli del doppio strato fosfolipido contenente liposomi; e

3. Fase esterna: fase acquosa contenente elettroliti stabilizzanti del pH e della forza ionica.

Le tre fasi sono inoltre caratterizzate da una seguente ripartizione percentuale fase 1/fase 2/fase 3: 10/20/70 %. I liposomi ottenibili dai procedimenti appena descritti formano parimenti oggetto della presente invenzione.

L'impiego del Minoxidil sotto forma di un suo composto idrosolubile è un altro aspetto caratterizzante nei confronti dello stato tecnica nel quale viene normalmente impiegata la base libera e questa differenza consente, assieme al procedimento della tripla emulsione, l'ottenimento dei liposomi secondo la presente invenzione. Va sottolineato infatti che oltre alle difficoltà di incapsulare Minoxidil nei liposomi, così come del resto di altri principi attivi, note dallo stato della tecnica, si aggiunge anche la scarsissima solubilità in acqua della base libera. L'impiego di Minoxidil sotto forma di un suo

composto idrosolubile nel consentire una facile solubilizzazione in acqua ne favorisce il suo impiego nel procedimento secondo la presente invenzione.

Tra i composti idrosolubili possono venire citati Minoxidil solfato, piridinol-carbammato, vitamina C e/o altre vitamine idrosolubili, antibiotici, cortisonici, antimicotici, cardiovascolari, altri principi attivi farmaceutici e/o sostanze di interesse cosmetico idrosolubili come tali e/o in forma di derivato tra i quali viene impiegato in modo particolarmente preferito il Minoxidil solfato.

I liposomi ottenibili secondo il procedimento della presente invenzione giocano un ruolo determinante nel veicolare il Minoxidil negli strati profondi del cuoio capelluto, grazie all'affinità della loro struttura con l'epidermide. La particolare struttura del liposoma inoltre fa sì che il farmaco venga rilasciato lentamente e evita che il farmaco venga assorbito nel microcircolo. Infatti la molecola di Minoxidil allo stato libero è di dimensioni molto piccole e attraversa facilmente la barriera dei capillari. Nel caso di incapsulamento all'interno

dei liposomi a causa delle grandi dimensioni di questi ultimi che sono di svariati ordini di grandezza più grandi una molecola, il meccanismo di assorbimento è difficile o del tutto impossibile da attuare. Inoltre, poiché nelle condizioni di totale incapsulamento garantite dal procedimento secondo la presente invenzione, le molecole di Minoxidil solfato sono confinate all'interno dei liposomi ne deriva che il loro diffondere attraverso la barriera dei capillari e il conseguente effetto sistemico indesiderato risultano essere fortemente impediti o totalmente assenti.

Formano inoltre ulteriore oggetto della presente invenzione formulazioni a lento rilascio contenenti liposomi ottenibili secondo i procedimenti della presente invenzione nei quali sono totalmente incapsulati sostanze attive idrofile di interesse farmaceutico e usuali additivi e, oppure veicoli farmaceuticamente tollerabili.

Nell'ambito della presente descrizione con l'espressione procedimento per incapsulamento quantitativo di sostanze idrosolubili nei liposomi ci si riferisce ad un procedimento che

porta a liposomi che contengono nella fase interna acquosa una quantità di almeno il 90 % in peso della quantità di sostanza idrosolubile impiegata nel procedimento, determinata per HPLC sulla frazione liposomiale precedentemente ottenuta per ultracentrifugazione o per cromatografia gel-permeation.

Nel seguito verranno forniti esempi non limitativi di formulazioni contenenti liposomi ottenibili secondo il procedimento della presente invenzione contenente Minoxidil sotto forma di solfato e usuali additivi e, oppure veicoli farmaceuticamente tollerabili (esempi 1, 2 e 3). Vengono inoltre riportati alcuni esempi di confronto nei quali si è tentato di incapsulare sia il Minoxidil in forma di base libera sia Minoxidil sotto forma di Minoxidil solfato all'interno dei liposomi utilizzando procedimenti noti dallo stato della tecnica (esempi 4 e 5) verificando le differenze percentuali di incapsulamento. Viene quindi riportato un esempio di incapsulamento di un'altra sostanza idrosolubile di interesse farmacologico, la nicotinammide sia con il procedimento della presente invenzione sia con i procedimenti noti

dallo stato della tecnica.

Esempio 1

Produzione di liposomi contenenti Minoxidil

Minoxidil solfato (pari al 2 % di

base libera)	2,70 %
Fosfatidilcolina	10,00 %
Colesterolo	1,00 %
Glicole propilenico	10,00 %
Acido citrico monoidrato	0,25 %
Sodio cloruro	0,20 %
Sodio idrato gocce	0,20 %
Acqua purificata	q.b. a 100,00 %

Le percentuali sono percentuali in peso.

Procedimento per 500 gr:

A) Soluzione del Minoxidil solfato: in un adatto contenitore aggiungere il Minoxidil solfato a 20 ml di acqua. Scaldare moderatamente e agitare fino a soluzione completa.

B) Solubilizzazione della fosfatidilcolina: in un adatto contenitore versare il glicole propilenico e aggiungere fosfatidilcolina e colesterolo. Scaldare a 70° e agitare fino a soluzione completa; per raffreddare a 30°C.

C) Preparazione della soluzione elettrolitica: in un adatto contenitore versare la

parte restante di acqua, quindi aggiungere acidi citrico, sodio cloruro e sodio idrato. Agitare fino a soluzione completa.

D) Preparazione della fase lipidica: versare lentamente la soluzione A) alla soluzione B) mantenendo in violento agitazione mediante l'azione di un omogeneizzatore da laboratorio. Terminata l'aggiunta continuare con l'omogeneizzazione fino ad ottenere una completa emulsione a fase lipidica esterna.

E) Preparazione dei liposomi: versare lentamente l'emulsione D) alla soluzione C) mantenendo in violento agitazione mediante l'azione di un omogeneizzatore da laboratorio. Terminata l'aggiunta continuare con l'omogeneizzazione fino ad ottenere una completa emulsione a fase esterna acquosa.

Il prodotto ottenuto si presenta in forma di latte fluido e stabile anche a sollecitazioni meccaniche molto forti (centrifuga). La percentuale di farmaco incapsulata nei liposomi è superiore al 90%, determinata per HPLC sulla frazione liposomiale precedentemente ottenuta per ultracentrifugazione o per cromatografia gel-permeation.

Esempio 2

Produzione di liposomi contenenti Minoxidil

Minoxidil solfato (pari al 2% di base libera)	2,70 %
Fosfatidilcolina	10,00 %
Butilidrossitoluene	0,01 %
Colesterolo	1,00 %
Glicole pentilenico	5,00 %
Glicole propilenico	5,00 %
Glicole citrico monoidrato	0,25 %
Sodio cloruro	0,20 %
Sodio idrato gocce	0,20 %
Disodio edetato	0,15 %
Acqua purificata	q.b.a 100.00%

Procedimento per 2000 gr:

A) Solublizzazione del Minoxidil solfato: in un contenitore aggiungere il Minoxidil solfato a 80 ml di acqua. Scaldare moderatamente e agitare fino a soluzione completa.

B) Solubilizzazione della fosfatidilcolina: in un contenitore versare il glicole propilenico e il glicole pentilenico, poi aggiungere fosfatidilcolina e colesterolo. Scaldare a 70°C, poi aggiungere butilidrossitoluene.

C) Preparazione della soluzione

elettrolitica: in contenitore versare la parte restante di acqua, quindi aggiungere acido citrico, disodio edetato, sodio cloruro e sodio idrato. Agitare fino a soluzione completa.

D) Preparazione della fase lipidica: versare lentamente la soluzione A) alla soluzione B) mantenendo in violento agitazione mediante l'azione di un omogeneizzatore da laboratorio. Terminata l'aggiunta continuare con l'omogeneizzazione fino ad ottenere una completa emulsione a fase lipidica esterna.

E) Preparazione dei liposomi: versare lentamente l'emulsione D) alla soluzione C) mantenendo in violento agitazione mediante l'azione di un omogeneizzatore da laboratorio. Terminata l'aggiunta continuare con l'omogeneizzazione fino ad ottenere una completa emulsione a fase esterna acquosa.

Il prodotto ottenuto si presenta in forma di latte fluido e stabile anche a sollecitazioni meccaniche molto forti (centrifuga). Inoltre, grazie all'aggiunta di conservanti e di antiossidanti, il prodotto risulta essere microbiologicamente stabile e resistente ai fenomeni di ossidazione per un periodo di tempo di

almeno due anni. La percentuale di farmaco incapsulata nei liposomi è superiore al 90%.

Esempio 3

Produzione di un gel a base di liposomi
contenenti Minoxidil

Minoxidil solfato (pari al 2 % di base libera)	2,70 %
Fosfatidilcolina	10,00 %
Butilidrossitoluene	0,01 %
Colesterolo	1,00 %
Glicole pentilenico	5,00 %
Glicole propilenico	5,00 %
Acido citrico monoidrato	0,25 %
Sodio cloruro	0,20 %
Sodio idrato gocce	0,20 %
Disodio edetato	0,15 %
Amigel	2,00 %
Acqua purifica	q.b.a 100,00 %

Procedimento per 50,00 Kg:

A) Soluzione del Minoxidil solfato: in un contenitore aggiungere il Minoxidil solfato a 2 litri di acqua. Scaldare moderatamente e agitare fino a soluzione completa.

B) Solubilizzazione della fosfatidilcolina: in un contenitore versare il glicole propilenico e

il glicole pentilenico, poi aggiungere fosfatidilcolina e colesterolo, Scaldare a 70°C e agitare fino a soluzione completa. Raffreddare a 30° e poi aggiungere butilidrossitoluene.

C) Preparazione della soluzione elettrolitica: in un contenitore versare la parte restante di acqua, quindi aggiungere acidi citrico, disodio edetato, sodio cloruro e sodio idrato. Agitare fino a soluzione completa.

D) Preparazione della fase lipidica: versare lentamente la soluzione A) alla soluzione B) mantenendo in violento agitazione mediante l'azione di un omogeneizzatore pilota. Terminata l'aggiunta continuare con l'omogeneizzazione fino ad ottenere una completa emulsione a fase lipidica esterna.

E) Preparazione dei liposomi: versare lentamente l'emulsione D) alla soluzione C) mantenendo in violento agitazione mediante l'azione di un omogeneizzatore pilota. Terminata l'aggiunta continuare con l'omogeneizzazione fino ad ottenere una completa emulsione a fase esterna acquosa.

F) Preparazione del gel: ai liposomi ottenuti in E) aggiungere amigel mantenendo sotto

omogeneizzazione fino a dispersione completa dell'addensante.

Il prodotto ottenuto si presenta in forma di gel lattescente e stabile anche a sollecitazioni meccaniche molto forti (centrifuga). Inoltre, grazie all'aggiunta di conservanti e di antiossidanti, il prodotto risulta essere microbiologicamente stabile e resistente ai fenomeni di ossidazione. La percentuale di farmaco incapsulata nei liposomi è superiore al 90 %.

Esempio 4

Produzione di liposomi contenenti Minoxidil

Minoxidil (base libera)	1,00 %
Fosfatidilcolina	10,00 %
Colesterolo	1,00 %
Etanolo	10,00 %
Acido benzoico	0,20 %
Butilidrossianisolo	0,01 %
Calcio cloruro soluzione 8 millimolare	77,79 %

Procedimento per 500 gr:

A) Solubilizzazione della fosfatidilcolina:
in un contenitore versare etanolo e aggiungere fosfatidilcolina e colesterolo. Scaldare a 70° e agitare fino a soluzione completa. Raffreddare a

30° quindi aggiungere acido benzoico e butilidrossianisolo.

B) Aggiunta del Minoxidil: alla soluzione della fosfatidilcolina aggiungere il Minoxidil. Omogeneizzare energicamente fino a completa dispersione.

C) Preparazione della soluzione elettrolitica: in un contenitore versare l'acqua, quindi aggiungere calcio cloruro e agitare fino a soluzione completa.

D) Preparazione dei liposomi: versare lentamente la dispersione B) nella soluzione C) mantenendo in violento agitazione mediante l'azione di un omogeneizzatore da laboratorio. Terminata l'aggiunta continuare l'omogeneizzazione fino ad ottenere una completa emulsione a fase esterna acquosa.

Il prodotto si presenta in forma di latte fluido e stabile anche a sollecitazioni meccaniche molto forti (centrifuga). Tuttavia la percentuale di Minoxidil incapsulato è inferiore a 20 %, determinata per HPLC sulla frazione liposomiale precedentemente ottenuta per ultracentrifugazione o per cromatografia gel-permeation. Il metodo seguito è descritto nel brevetto EP n° 254619.

Seguendo lo stesso procedimento si è utilizzato al posto della base libera il Minoxidil solfato caso una percentuale di incapsulazione mai superiore al 40 %.

Esempio 5

Produzione di liposomi contenenti Minoxidil

Minoxidil (base libera)	2,00 %
Fosfatidilcolina	10,00 %
Butilidrossitoluene	0,01 %
Acido colico	0,01 %
Potassio fosfato monobasico	0,03 %
Sodio fosfato bibasico	0,10 %
Disodio edetato	0,02 %
Acqua purificata	q.b. a 100,00 %

procedimento per 500 gr:

A) Solubilizzazione dei componenti idrosolubili: in un contenitore aggiungere acqua, sodio fosfato, potassio fosfato, disodio edetato e acido colico. Agitare fino a soluzione completa.

B) Aggiunta del Minoxidil: alla soluzione precedentemente ottenuta aggiungere lentamente il Minoxidil mantenendo sotto costante omogeneizzazione. Continuare ad omogeneizzare fino a completa incorporazione e dispersione del Minoxidil, ottenuta verificando nella massa la

totale assenza di grumi di principio attivo e/o osservando al microscopio l'assenza di particelle grossolane.

C) Formazione dei liposomi: alla sospensione precedentemente ottenuta aggiungere lentamente la fosfatidilcolina e il butilidrossitoluene mantenendo sotto costante omogeneizzazione. Continuare ad omogeneizzare fino a completa incorporazione e dispersione della fosfatidilcolina.

Il prodotto ottenuto si presenta in forma di latte fluido e stabile anche a sollecitazioni meccaniche molto forti (centrifuga). Tuttavia la percentuale di Minoxidil incapsulato è inferiore al 20 %. Il metodo seguito è descritto nel brevetto EP n° 0 461 333 A1. Seguendo lo stesso procedimento si è utilizzato il Minoxidil solfato al posto della base libera ottenendo in questo caso una percentuale di incapsulazione mai superiore al 40 %.

Esempio 6

<u>Produzione di liposomi contenenti</u>	
<u>Nicotinammide</u>	
Nicotinammide	1,00 %
Fosfatidilcolina	10,00 %

Colesterolo	1,00 %
Glicole propilenico	10,00 %
Acido citrico monoidrato	0,25 %
Sodio cloruro	0,20 %
Sodio idrato gocce	0,20 %
Acqua purificata	q.b. a 100,00 %

Procedimento per 500 gr:

A) Soluzione della Nicotinammide: in un contenitore aggiungere Nicotinammide a 20 ml di acqua. Scaldare moderatamente e agitare fino a soluzione completa.

B) Solubilizzazione della fosfatidilcolina: in un contenitore versare il glicole propilenico e aggiungere fosfatidilcolina e colesterolo. Scaldare a 70° e agitare fino a soluzione completa. Raffreddare a 30°.

C) Preparazione della soluzione elettrolitica: in un contenitore versare la parte restante di acqua, quindi aggiungere acidi citrico, sodio cloruro e sodio idrato. Agitare fino a soluzione completa.

D) Preparazione della fase lipidica: versare lentamente la soluzione A) nella soluzione B) mantenendo in violento agitazione mediante l'azione di un omogeneizzatore da laboratorio.

Terminata l'aggiunta continuare con l'omogeneizzazione fino ad ottenere una completa emulsione a fase lipidica esterna.

E) Preparazione dei liposomi: versare lentamente l'emulsione D) alla soluzione C) mantenendo in violento agitazione mediante l'azione di un omogeneizzatore da laboratorio.

Terminata l'aggiunta continuare con l'omogeneizzazione fino ad ottenere una completa emulsione a fase esterna acquosa.

Il prodotto ottenuto si presenta in forma di latte fluido e stabile anche a sollecitazioni meccaniche molto forti (centrifuga). La percentuale di farmaco incapsulata nei liposomi è superiore al 90%. Si è inoltre seguito il metodo descritto EP n° 254619, ottenendo in questo caso una percentuale di incapsulazione mai superiore al 20 %. Infine si è seguito il metodo descritto nel brevetto EP n° 0 461 333 A1, ottenendo in questo caso una percentuale di incapsulazione mai superiore al 40 %.

RM 97 A 0293

RIVENDICAZIONI

1. Procedimento per l'incapsulamento quantitativo di sostanze idrosolubili all'interno di liposomi, caratterizzato dal fatto di comprendere gli stadi seguenti:

a) solubilizzazione di fosfolipidi in un solvente organico;

b) solubilizzazione in acqua di almeno una di dette sostanze idrosolubili, la quantità di acqua impiegata essendo la minima per consentire la solubilizzazione di detta almeno una sostanza idrosolubile;

c) aggiunta, sotto energico agitazione, della soluzione ottenuta dallo stadio b) alla soluzione ottenuta dallo stadio a), per cui viene ottenuta una emulsione a fase inversa, la cui fase continua è costituita da fosfolipidi in detto solvente organico e la cui fase interna è costituita da acqua contenente detta almeno una sostanza idrosolubile; e

d) aggiunta, sotto energico agitazione, della emulsione ottenuta dallo stadio c) ad una soluzione acquosa di elettroliti, per cui si ottiene una emulsione tripla a fase esterna acquosa, detta almeno una sostanza idrosolubile

essendo contenuta sostanzialmente solo nella fase acquosa interna.

2. Procedimento secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che detta soluzione ottenuta dallo stadio b) viene impiegata in quantità dal 30 al 50 % in peso di detta soluzione ottenuta dallo stadio a).

3. Procedimento secondo almeno una delle rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto che lo stadio d) viene condotto a temperature tra 20 e 40°C.

4. Procedimento secondo almeno una delle rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto di venire condotto ad un pH tra 6 e 8.

5. Procedimento secondo almeno una delle rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto (che lo stadio d) viene condotto per un periodo di tempo compreso tra 1 e 4 ore.

6. Procedimento secondo almeno una delle rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto che detto solvente è scelto dalla classe formata da etanolo, il glicole pentilenico, la glicerina il dimetilisosorbato e/o tutti quei solventi accettati per l'uso farmaceutico cosmetico che siano in grado di sciogliere le

lecitine.

7. Procedimento secondo almeno una delle rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto che in detto stadio a) come fosfolipide viene impiegata fosfatidilcolina.

8. Procedimento secondo almeno una delle rivendicazioni precedenti, caratterizzato dal fatto che in detto stadio a) viene aggiunto un agente stabilizzante, in particolare colesterolo.

9. Procedimento secondo la rivendicazione 7, caratterizzato dal fatto che detta almeno una sostanza idrosolubile è una sostanza adatta ad una somministrazione di tipo dermatologico.

10. Procedimento secondo la rivendicazione 9, caratterizzato dal fatto che detta sostanza idrosolubile è scelta dalla classe formata da Minoxidil sotto forma di un suo composto idrosolubile, nicotinammide, ecc, piridinol-carbammato, Vitamina C e/o altre vitamine idrosolubili, antibiotici, cortisonici, antimicotici, cardiovascolari, altri principi attivi farmaceutici e/o sostanze di interesse cosmetico idrosolubili come tali e/o in forma di derivato.

11. Liposomi ottenibili secondo il

procedimento rivendicato in almeno una delle rivendicazioni precedenti.

12. Procedimento per l'incapsulamento quantitativo di Minoxidil sotto forma di un suo composto idrosolubile, all'interno di liposomi caratterizzato dal fatto di comprendere gli stadi seguenti:

a) solubilizzazione di fosfolipidi in un solvente organico;

b) solubilizzazione in acqua di Minoxidil, sotto forma di un suo composto idrosolubile, la quantità di acqua impiegata essendo la minima per consentire la solubilizzazione di detto Minoxidil idrosolubile;

c) aggiunta, sotto energico agitazione, della soluzione ottenuta dallo stadio b) alla soluzione ottenuta dallo stadio a) per cui viene ottenuta una emulsione a fase inversa la cui fase continua è costituita da fosfolipidi in detto solvente organico, e la cui fase interna è costituita da detto Minoxidil disciolto in acqua; e

d) aggiunta, sotto energico agitazione, dell'emulsione ottenuta dallo stadio c) ad una soluzione acquosa di elettroliti per cui si ottiene una emulsione tripla a fase esterna

acquosa, detto Minoxidil idrosolubile essendo contenuto sostanzialmente solo nella fase acquosa interna.

13. Procedimento secondo la rivendicazione 12, caratterizzato dal fatto che detta soluzione ottenuta dallo stadio b) viene impiegata in quantità dal 30 a 50 % in peso di detta soluzione ottenuta dallo stadio a).

14. Procedimento secondo almeno una delle rivendicazioni 12 o 13 caratterizzato dal fatto che lo stadio d) viene condotto a temperature tra 20 e 40°C.

15. Procedimento secondo almeno una delle rivendicazioni da 12 a 14 caratterizzato dal fatto di venire condotto a pH tra 6 e 8.

16. Procedimento secondo almeno una delle rivendicazioni da 12 a 15 caratterizzato dal fatto che lo stadio d) viene condotto per un periodo di tempo da 1 a 4 ore.

17. Procedimento secondo almeno una delle rivendicazioni precedenti caratterizzato dal fatto che il composto idrosolubile di Minoxidil è Minoxidil solfato.

18. Liposomi ottenibili secondo il procedimento quale rivendicato in almeno una delle

rivendicazioni da 12 a 17.

19. Liposomi secondo la rivendicazione 18, caratterizzati dal fatto di contenere Minoxidil solfato, totalmente incapsulato, in quantità comprendente al 2 % in peso di Minoxidil base libera riferito al peso del prodotto finito.

20. Formulazioni a lento rilascio contenenti sostanze idrosolubili adatte a somministrazioni di tipo dermatologico completamente incapsulate all'interno di liposomi quali rivendicati nelle rivendicazioni 18 o 19 e additivi oppure eccipienti farmaceuticamente tollerabili.

21. Formulazioni farmaceutiche ottenibili secondo il procedimento descritto nell'esempio 3.
p.p. IDI Farmaceutici S.p.A.

Gilberto Tonon
(Iscri. Albo n. 83)

