(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) **N° de publication :** **2 950 252**

(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) **N° d'enregistrement national :** **09 56542**

(51) Int Cl[8] : ***A 61 K 9/14*** *(2006.01), A 61 K 47/36, 47/02, A 61 P 1/00*

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

(22) **Date de dépôt :** 23.09.09.

(30) **Priorité :**

(43) **Date de mise à la disposition du public de la demande :** 25.03.11 Bulletin 11/12.

(56) **Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire :** *Se reporter à la fin du présent fascicule*

(60) **Références à d'autres documents nationaux apparentés :**

(71) **Demandeur(s) :** *CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - CNRS - Etablissement public* — FR.

(72) **Inventeur(s) :** FATTAL ELIAS, TSAPIS NICOLAS et REYNAUD FRANCELINE.

(73) **Titulaire(s) :** CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - CNRS - Etablissement public.

(74) **Mandataire(s) :** NOVAGRAAF TECHNOLOGIES.

(54) FORME GALENIQUE CAPABLE D'ADSORBER DE MANIERE SPECIFIQUE LES MOLECULES INDESIRABLES PRESENTES DANS LE TUBE DIGESTIF.

(57) La présente invention se rapporte à une forme galénique comprenant des particules capables d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables présentes dans le tube digestif, son procédé de préparation et son utilisation notamment pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement des effets indésirables liés à un déséquilibre de la flore intestinale et/ou colique pouvant résulter par exemple d'une antibiothérapie.

FR 2 950 252 - A1

FORME GALENIQUE CAPABLE D'ADSORBER DE MANIERE SPECIFIQUE LES MOLECULES INDESIRABLES PRESENTES DANS LE TUBE DIGESTIF

DESCRIPTION

Domaine technique

La présente invention se rapporte à une forme galénique comprenant des particules capables d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables présentes dans le tube digestif, son procédé de préparation et son utilisation notamment pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement des effets indésirables liés à un déséquilibre de la flore intestinale et/ou colique pouvant résulter par exemple d'une antibiothérapie.

Dans la description ci-dessous, les références entre crochets (**[ ]**) renvoient à la liste des références présentée à la fin du texte.

Etat de la technique

L'administration orale des médicaments présente un intérêt par rapport à d'autres voies d'administration comme par exemple la voie parentérale. L'administration par voie parentérale est en général douloureuse et peut entraîner des complications. De plus, cette voie d'administration nécessite du matériel adapté, du personnel qualifié et des conditions d'asepsie empêchant tout apport exogène de micro-organismes (bactéries, parasites etc.).

Selon la nature du principe actif, une administration par voie orale peut être avantageuse. Cela permet aux principes actifs des médicaments de traverser l'estomac puis être absorbés au niveau de l'intestin grêle pour diffuser dans l'ensemble de l'organisme et traiter le foyer infectieux pour lequel ils ont été administrés. C'est le cas par exemple des antibiotiques.

Toutefois, une fraction des antibiotiques ingérés (dont l'importance varie avec les caractéristiques propres de chaque type d'antibiotique) n'est pas absorbée et continue sa progression jusqu'au colon avant d'être éliminée dans les selles. Ces antibiotiques résiduels sont rejoints, au niveau de l'intestin grêle, par une fraction des antibiotiques absorbés mais qui sont ré-excrétés dans le tube digestif par l'intermédiaire de l'élimination biliaire.

Cette fraction est d'importance variable en fonction du métabolisme et des voies d'élimination de chaque antibiotique. Enfin, pour certains antibiotiques, une fraction de la dose absorbée est éliminée directement par la muqueuse intestinale dans la lumière du tube digestif. Ainsi, que les antibiotiques aient été administrés par voie orale ou par voie parentérale, une fraction résiduelle active se retrouve généralement au niveau du tube digestif, en particulier du colon. Cela est vrai, à des degrés divers, pour la grande majorité des familles d'antibiotiques utilisés en thérapeutique, la seule exception notable étant la famille des aminoglycosides pour lesquels l'excrétion intestinale est négligeable. Pour les autres antibiotiques, l'excrétion intestinale d'une activité antibiotique résiduelle va avoir différentes conséquences toutes délétères. En effet, il existe au niveau du colon un écosystème bactérien complexe (plusieurs centaines d'espèces bactériennes différentes) et très dense (plus de 10 millions de bactéries par gramme de contenu colique) qui va être affecté par l'arrivée des résidus actifs d'antibiotiques.

La première conséquence de l'arrivée des résidus actifs d'antibiotiques est que les nombreuses bactéries qui peuplent le colon vont subir l'action de l'antibiotique. La grande majorité de ces bactéries est sensible à l'antibiotique et l'action de ce dernier aboutit à :

- un déséquilibre de la flore qui serait la cause principale des diarrhées banales suivant parfois la prise d'antibiotiques [1]. Ces diarrhées ne sont, en règle générale, pas graves et cessent rapidement soit spontanément soit à l'arrêt du traitement. Elles sont, toutefois, mal ressenties par les

patients et ajoutent à l'inconfort de la maladie de base pour laquelle l'antibiotique a été prescrit. Des préparations pharmaceutiques à base de flores de remplacement, voire l'ingestion de yaourts, ont été préconisées pour combattre les déséquilibres de la flore colique suivant l'antibiothérapie. Aucune de ces attitudes n'a, cependant, fait la preuve de son efficacité de façon réellement convaincante ;

- une perturbation des fonctions de résistance à la colonisation par des bactéries exogènes (ou « effet barrière ») avec possibilités de risque accru d'infection, par exemple, intoxication alimentaire à salmonelles [2].

La deuxième conséquence de l'arrivée d'une activité antibiotique résiduelle sur la flore colique est la sélection de microorganismes résistants à l'antibiotique. Ces microorganismes peuvent être de divers type :

- il peut d'abord s'agir de bactéries pathogènes comme par exemple, *Clostridium difficile*, une espèce capable de sécréter des toxines causant de redoutables colites dites pseudomembraneuses [3] ;

- il peut aussi s'agir de microorganismes relativement peu pathogènes mais dont la multiplication peut amener à une infection de voisinage (Candidose vaginale ou cystite à *Escherichia Coli* résistant) ;

- il peut enfin s'agir de bactéries résistantes commensales nonpathogènes mais dont la multiplication et l'élimination fécale va accroître la dissémination dans l'environnement. Or, ces bactéries commensales résistantes peuvent constituer une source importante de mécanismes de résistance pour des espèces pathogènes. Ce risque est actuellement considéré comme majeur en raison du caractère inquiétant de l'évolution vers la multirésistance de nombreuses espèces pathogènes pour l'homme.

Pour au moins toutes ces raisons, il subsiste un besoin de disposer d'un moyen pour adsorber et/ou inactiver les molécules résiduelles indésirables qui arrivent dans le tube digestif.

L'ingestion (volontaire et/ou accidentelle) de substances médicamenteuses ou domestiques, peut constituer un autre cas où l'adsorption et/ou l'inactivation des molécules indésirables est recherchée. En France, on dénombre chaque année plus de 130000 cas d'empoisonnement accidentels et volontaires, par des substances médicamenteuses ou domestiques. 10% de ces cas sont mortels. Habituellement, les patients sont amenés dans les services d'urgence et soumis à différents traitements. Bien que quelques substances toxiques aient des antidotes spécifiques, ceux-ci sont rares, leur efficacité n'est pas souvent prouvée et leur conservation est difficile. Il est à noter que seulement 10% des intoxications peuvent être traitées dans les hopitaux. Dans la majorité des cas les cliniciens ne disposent que de solutions visant à limiter l'intoxication et assurer la survie du patient : vomissement provoqué, lavage gastrique, utilisation de charbon actif, de Terre de Foulon et traitement symptomatique. Ces traitements sont souvent lourds, coûteux et non dénués de risques. Dans de tels cas, disposer d'un moyen permettant le traitement en urgence des empoisonnements par voie orale devient une nécessité. Dans le cas des intoxications orales, les traitements mis en œuvre à l'heure actuelle pour éviter le passage des toxiques dans le sang recourent soit au lavage gastrique (qui est proscrit dans le cas de produits corrosifs et qui présentent des risques au plan respiratoire), soit au charbon actif (dont l'efficacité n'a pas été totalement démontrée et qui, pour cette raison, est utilisée de manière variable selon les hôpitaux).

Par ailleurs, les résidus de médicaments, lorsqu'ils ne sont pas totalement dégradés dans l'organisme, sont excrétés dans les selles et les urines sous leur forme initiale ou sous la forme d'un ou de plusieurs métabolites. On considère aujourd'hui que l'impact environnemental des médicaments rejetés ainsi dans l'écosystème sera élevé.

Des formes galéniques basées sur la libération d'enzymes capables de dégrader des antibiotiques au niveau du colon, ont été proposées pour réduire la présence de molécules indésirables dans le tube digestif et/ou

leur rejet dans l'écosystème. Toutefois, ces formes galéniques ne présentent pas toujours la stabilité recherchée tout le long du tube digestif ce qui peut entraîner la libération prématurée du principe actif.

D'autres formes galéniques permettant une délivrance d'adsorbants du type charbon, bentonite etc. au niveau du colon ont également été développés. L'inconvénient majeur de ce type de système réside dans le manque de spécificité de l'adsorption par rapport aux molécules adsorbées.

Qu'il s'agisse de substances toxiques, de résidus médicamenteux ou leurs métabolites, d'antibiotiques résiduels capables de modifier la flore colique et d'entraîner l'emergence de résistances, il existe un réel besoin à développer une forme galénique pour éliminer les molécules indésirables au niveau du tube digestif par adsorption, palliant les défauts, inconvénients et obstacles de l'art antérieur.

En particulier, il existe un réel besoin à développer une forme galénique à la fois simple à préparer, facilement reproductible et transposable à une plus grande échelle, permettant d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables présentes dans le tube digestif, notamment dans l'intestin grêle et/ou le colon.

Description de l'invention

La présente invention a précisément pour but de répondre à ce besoin en fournissant des formes galéniques comprenant des particules capables d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables présentes dans le tube digestif, lesdites particules comprenant un polymère cationique associé à au moins un ion métallique.

Les composants du tube digestif peuvent être classés essentiellement en trois parties : l'œsophage, l'estomac et les intestins. Les intestins comprennent à leur tour l'intestin grêle, le gros intestin ou côlon et le rectum. Les formes galéniques selon l'invention peuvent être

utilisées pour l'adsorption de molécules indésirables présentes au niveau de tous les composants du tube digestif.

Dans un mode particulier de réalisation, l'invention concerne les formes galéniques comprenant des particules capables d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables présentes dans les intestins, plus particulièrement dans l'intestin grêle et/ou le colon.

Au sens de l'invention, par « molécules indésirables », on entend les molécules indésirables pour l'organisme et/ou pour l'écosystème localisées dans le tube digestif, par exemple dans les intestins notamment dans l'intestin grêle et/ou le colon. A ce titre on peut citer, de manière non limitative :

- les substances toxiques domestiques comme par exemple, les détergents, les susbtances rentrant dans la composition des pesticides ménagers, l'eau de javel, les détachants, les antirouilles (type Rubigine), les détartrants ;
- les résidus médicamenteux ou les métabolites des médicaments qui sont ingérés de manière volontaire et/ou accidentelle ;
- les résidus médicamenteux ou les métabolites des médicaments les plus employés en médécine humaine ou vétérinaire et que l'on retrouve dans les eaux comme par exemple ceux indiqués à dans le rapport de l'Académie de Pharmacie [5] ;
- les antibiotiques résiduels comme par exemple les beta-lactames, les quinolones notamment les fluoroquinolones, les aminoglucosides, les macrolides, les sulfamides, les antituberculeux, les tétracyclines.

Les formes galéniques selon l'invention comprennent des particules qui sont capables d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables se trouvant dans le tube digestif, par exemple dans les intestins notamment dans l'intestin grêle et/ou le colon. Dans le cadre de l'invention, le terme « spécifique » signifie que l'adsorption se fait de manière spécifique par rapport à un type de molécule donnée. En d'autres termes, les formes galéniques selon l'invention sont capables de distinguer

les molécules indésirables à adsorber des autres molécules présentes dans le tube digestif, avantageusement dans les intestins et en particulier dans l'intestin grêle et/ou le colon.

Comme indiqué, les formes galéniques selon l'invention comprennent des particules capables d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables se trouvant dans le tube digestif. Ces particules comprennent un polymère cationique associé à au moins un ion métallique.

Le polymère cationique peut être, par exemple, choisi dans le groupe comportant le polyéthylèneimine, la polylysine, la polyarginine, un polysaccharide cationique.

Dans un mode de réalisation particulier, le polysaccharide cationique peut être un polysaccharide comportant des groupements amines. Le polysaccharide cationique peut être, par exemple, le DEAE dextran (ou diéthylaminoéthyle dextran), le chitosan.

Dans un autre mode de réalisation particulier selon l'invention, le polysaccharide cationique est le chitosan.

Le chitosan est un polyoside composé de la distribution aléatoire de D-glucosamine liée en ß-(1-4) (unité désacétylée) et de N-acétyl-D-glucosamine (unité acétylée). Le chitosan est produit par désacétylation chimique (en milieu alcalin) ou enzymatique de la chitine qui est l'un des principaux composants de l'exosquelette des insectes et d'autres arthropodes (crustacés) ou de l'endosquelette des céphalopodes (calamars, etc.) ou encore de la paroi des champignons. Contrairement à la chitine, le chitosan est insoluble en milieu alcalin et neutre mais soluble en milieu acide.

La frontière entre chitosan et chitine correspond à un degré d'acétylation (DA) de 50% : en-deçà le composé est nommé chitosan, au-delà, chitine. Le degré d'acétylation (DA) est le pourcentage d'unités acétylées par rapport au nombre d'unités totales, il peut être déterminé par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) ou par un titrage par une base forte. Il est important de faire la distinction entre le degré

d'acétylation (DA) et le degré de désacétylation (DD). L'un étant l'inverse de l'autre c'est-à-dire que par exemple du chitosan ayant un DD de 70%, possède 30% de groupements acétyles et 70% de groupements amines sur ses chaînes.

Le chitosan peut avantageusement présenter un taux de désacétylation d'au moins 50%, par exemple entre 55 et 90%, par exemple entre 70 et 80%.

Les particules comprenant un polymère cationique associé à au moins un ion métallique, peuvent avoir un diamètre pouvant aller de 0,01 □m à 1 mm, par exemple de 0,01 à 100 □m, par exemple de 0,1 à 10 □m.

Le ou les ion(s) métallique(s) peu(ven)t être choisi(s) parmi les métaux alcalinoterreux, les métaux de transition, ou leur mélange. Le ou les ion(s) métallique(s) peu(ven)t être choisi(s) dans le groupe comprenant par exemple le fer, le cuivre, le zinc ou leur mélange.

Avantageusement, le polymère cationique et le ou les ion(s) métallique(s) forme(nt) un complexe. Au sens de l'invention, un complexe désigne un édifice polyatomique constitué d'un ion métallique associé à au moins un groupement chimique capable de délocaliser une partie de sa densité électronique sur l'ion métallique, formant ainsi des liaisons de coordination avec celui-ci. Le groupement chimique peut être par exemple un groupement amine.

Pour 1 g de polymère cationique, la quantité d'ion(s) métallique(s) associé(s) peut être de 1 à 300 mg, par exemple de 10 à 200 mg.

Lorsque le polymère cationique est le chitosan, pour 1 g de chitosan, la quantité d'ion(s) métallique(s) associé(s) peut être de 20 à 200 mg, par exemple de 35 à 135 mg voire de 40 à 135 mg.

Selon la nature de l'ion métallique, et la nature des groupements chimiques présents dans les molécules indésirables, l'ion métallique peut former, de manière spécifique, un complexe avec lesdites molécules.

Selon un mode de réalisation de l'invention, lorsque les molécules indésirables sont des antibiotiques, les formes galéniques comprennent

des particules pouvant contenir, en outre, un agent capable d'inactiver les antibiotiques. Les antibiotiques peuvent être, par exemple les quinolones, les aminoglucosides, les beta-lactames, les macrolides, les sulfamides, les antituberculeux, les tétracyclines. Ledit agent peut être une enzyme. A titre d'exemple, on peut citer les beta lactamases et/ou les erythromycine esterases. L'homme du métier saura choisir l'agent adapté en fonction de l'antibiotique à inactiver.

Comme déjà indiqué, les formes galéniques selon l'invention comprennent des particules capables d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables présentes dans le tube digestif. Afin d'augmenter davantage la stabilité des particules le long du tube digestif et afin d'éviter une adsorption prématurée de molécules, il est possible de renforcer les particules en les réticulant. Ainsi, dans un mode de réalisation particulier de l'invention les formes galéniques comprennent des particules sous forme réticulée. Les particules peuvent alors présenter un degré de réticulation allant de 0 à 100 %, par exemple de 1 à 99 %, par exemple de 10 à 80%. Lorsque le polymère cationique est un polysaccharide comportant des groupement amines, la réticulation peut avoir lieu avantageusement par lesdits groupements amines.

Le degré de réticulation peut alors être définie comme le pourcentage de groupements amines libres réticulés par l'agent réticulant, par rapport aux groupements amine initialement libres.

Le degré de réticulation des particules peut être déterminé par spectroscopie infrarouge, ou encore par titration [4] et [6].

Comme agent réticulant, on peut citer par exemple la glutaraldéhyde, le glycéraldéhyde, le formaldéhyde, l'épichlorohydrine, le tripolyphosphate.

Selon un autre mode de réalisation particulier de l'invention, les formes galéniques comprennent des particules telles que décrites précédemment, encapsulées dans des billes de pectine. Par billes de pectine, on entend des particules dont le diamètre moyen est compris entre 0,2 à 3 mm, par exemple de 0,5 à 1,7 mm, par exemple de 1 à 1,5

mm, obtenues par gélification ionique de gouttes d'une solution de pectine dans un bain d'une solution aqueuse contenant des cations multivalents, par exemple divalents ou trivalents [9]. Parmi ces ions multivalents on peut citer par exemple les ions calcium, les ions zinc, les ions aluminium, les ions fer ou les ions magnésium.

Au sens de l'invention, on entend par pectine aussi bien de la pectine méthylée, non méthylée, amidée ou non amidée. Plus particulièrement, les billes de pectine sont des billes de pectinate de zinc ou de calcium.

La pectine présente l'avantage d'être d'origine naturelle, dénuée de toxicité et pouvant spécifiquement être dégradée par les enzymes pectinolytiques présentes au niveau du colon. Une fois arrivées dans le colon, les billes se dégradent pour libérer les particules qui peuvent alors adsorber les molécules indésirables, comme par exemple les fluoroquinolones. L'encapsulation permet ainsi de renforcer davantage la stabilité des particules et de favoriser davantage une libération au niveau du colon.

Dans ce mode de réalisation, dans les formes galéniques, la concentration de pectine est de 5 à 90% en masse, par exemple de 25 à 50% en masse par rapport à la masse totale de la forme galénique et celle de l'association polymère cationique-ion(s) métallique(s) est de 5 à 90% en masse par exemple de 25 à 50% en masse par rapport à la masse totale de la forme galénique.

Toujours dans ce mode de réalisation, les billes de pectines peuvent être de forme sphérique et avoir un diamètre pouvant aller de 0,2 à 3 mm, par exemple de 0,5 à 1,7 mm, par exemple de 1 à 1,5 mm.

Dans un autre mode particulier de l'invention les particules éventuellement encapsulées dans des billes de pectines, peuvent être enrobées avec :

- un polymère cationique choisi dans le groupe comprenant la polyéthylèneimine, la polylysine, la polyarginine, le DEAE dextran (ou diéthylaminoéthyl dextran), le chitosan ;

- un polymère cellulosique choisi dans le groupe comprenant l'hydroxypropyle cellulose, l'hydroxyéthyle cellulose, l'hydroxyméthyle cellulose, l'hydroxypropyle méthyle cellulose, l'hydroxypropyle méthyle cellulose acétate succinate, l'hydroxypropyle méthyle cellulose phtalate, méthyle cellulose, éthyle cellulose, acétate de cellulose, cétate de phtalate cellulose, acétate trimellitate cellulose, carboxyméthyle cellulose de sodium ;
- un polymère d'acide acrylique, d'acide méthacrylique, de éthylacrylate, d'éthyleacrylate, de méthyle méthacrylate et/ou d' éthyle méthacrylate choisi dans le groupe comprenant les Eudragits® notamment Eudragit® NE, RL et RS, Eudragit® L30D-55 et L100-55, Eudragit® L100, Eudragit® S, et Eudragit® FS30D ;
- un polymère vinylique choisi dans le groupe comprenant le polyvinyle pyrrolidone, le vinyle actétate, le vinyle acétate phtalate, le vinyle acétate d'acide crotonique, éthylène-vinyle acétate.

Comme déjà indiqué, les formes galéniques de l'invention comprennent des particules éventuellement encapsulées et/ou enrobées capables d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables présentes dans le tube digestif. De telles molécules peuvent être choisies dans le groupe comprenant les quinolones notamment les fluoroquinolones, les aminoglycosides, les beta-lactames, les macrolides, les sulfamides, les antituberculeux, les tétracyclines. Les molécules indésirables peuevtn également être choisies dans le groupe comprenant :
- les substances toxiques domestiques ;
- les résidus médicamenteux ou les métabolites des médicaments qui sont ingérés de manière volontaire et/ou accidentelle ;
- les résidus médicamenteux ou les métabolites des médicaments les plus employés en médécine humaine ou vétérinaire susceptibles de se retrouver dans les eaux comme par exemple ceux indiqués à dans le rapport de l'Académie de Pharmacie [5] ;

L'enrobage permet de renforcer davantage la stabilité des particules éventuellement encapsulées, et de favoriser davantage une libération au niveau du tube digestif, avantageusement au niveau des intestins, en particulier au niveau de l'intestin grêle et/ou du colon.

Dans le cas de particules encapsulées dans des billes de pectine, par exemple des billes de pectinate de zinc, puis enrobées avec un polymère, par exemple un polymère de la famille des Eudragits, l'enrobage peut se dissoudre dans l'intestin grêle et la matrice de pectinate de zinc est ensuite dégradée par les enzymes pectinolytiques présentes au niveau du colon pour libérer les particules de chitosan-métal, lesquelles particules peuvent alors adsorber les molécules indésirables comme par exemple les antibiotiques.

La présente invention a également pour objet un procédé de préparation des formes galéniques telles que décrites précédemment, dans lequel :

(a) on dissout du chitosan dans une solution aqueuse d'un sel métallique ou d'un mélange des sels métalliques, dans des conditions de pH < 7, de manière à ce que les ions métalliques s'associent au polymère cationique ;

(b) on soumet la solution obtenue en *(a)* à une atomisation-séchage, de manière à obtenir des particules de polymère cationique associé à au moins un ion métallique ;

(c) on procède éventuellement à la réticulation des particules obtenues à l'étape *(b)* dans un solvant organique en présence d'un agent réticulant.

Dans l'étape *(a),* le polymère cationique peut être dissous à une concentration comprise entre 0,2 et 10% (p/v) dans une solution aqueuse d'un sel métallique ou d'un mélange de sels métalliques à une concentration comprise entre 0,01M et 1M, par exemple 0,1M. Comme sel

métallique on peut citer par exemple le sulfate, le nitrate, le chlorure, l'acétate, de cuivre, de fer, de zinc.

La dissolution s'effectue à un pH < 7, par exemple à un pH de 5. La solution résultante peut être laissée sous agitation pendant une durée comprise entre 1h et 24h, par exemple 12h, à température ambiante (25ºC). A l'issue de cette étape, on obtient une solution dans laquelle les ions métalliques sont associés au polymère cationique.

Dans l'étape *(b)*, on soumet la solution obtenue en (a) à une atomisation-séchage. Le séchage par atomisation (ou atomisation-séchage) est une technique d'élimination d'eau qui consiste à pulvériser un produit sous forme liquide, solution ou suspension, dans un courant de gaz chaud (air ou un gaz neutre). A l'issue de cette étape, les particules de polymère cationique obtenues sont sous forme d'une poudre avec notamment une coulabilité améliorée facilitant sa manutention et son dosage. L'atomisation-séchage étant un procédé bien connu, et l'homme du métier sera en mesure de déterminer les paramètres (par exemple la vitesse de séchage, la température du produit à sécher, la température d'entrée et de sortie de gaz etc.) pour une mise en œuvre optimale.

Dans l'étape *(c),* afin de procéder à la réticulation des particules, on met en suspension les particules obtenues à l'étape *(b)* dans un solvant organique et on y introduit un agent réticulant. Le solvant organique peut être choisi par exemple parmi le méthanol, l'éthanol, la pyridine, l'acétone, l'acide acétique, le DMSO, le dichlorométhane**.** Le milieu réactionnel peut contenir ou ne pas contenir de l'eau.

La suspension de particules peut être incubée sous agitation avec l'agent réticulant à température ambiante (25ºC) pendant une durée comprise entre 10 minutes et 24h, par exemple 4h. Les particules, réticulées ou non, peuvent alors être filtrées et lavées dans un mélange d'eau et d'un solvant organique miscible à l'eau comme par exemple un mélange eau-éthanol, pour éliminer les ions métalliques ainsi que l'agent réticulant en excès. Les particules peuvent ensuite être séchées sous vide

ou à l'étuve pendant une durée comprise entre 1h et 48h, par exemple 24h. La température de l'étuve peut être comprise entre 25 et 100 degrés celsius, par exemple 37°C.

Pour préparer les particules encapsulées, après l'étape *(b)* ou après l'étape *(c)*, les particules sont d'abord mises en suspension dans l'eau. La concentration des particules dans la suspension peut aller de 0,1 à 10% (p/v), par exemple 3%. Une solution de pectine, de concentration pouvant aller de 0,1 à 10% (p/v) par exemple 3% est alors mélangée avec la suspension de particules de chitosan-métal. Le mélange est alors formulé en faisant tomber des gouttes de ce mélange dans un bain contenant des cations multivalents, par exemple une solution d'acétate de zinc à 12% (p/v). La gélification ionique est obtenue en laissant les gouttes du mélange sous agitation dans la solution d'ions multivalents pendant un temps compris entre 1 minute et 24 heures, par exemple entre 5 minutes et 1heure, par exemple entre 10 et 30 minutes. Les billes de pectine contenant des particules selon l'invention ainsi obtenues sont ensuites filtrées et rincées plusieurs fois dans de l'eau avantageusment ultra-pure (conductivité 18,2MegaOhms.cm, système de purification Synergy de Millipore, France) par exemple entre 0 et 10 fois, par exemple entre 1 et 4 fois. Les billes de pectine contenant des particules selon l'invention ainsi obtenues, sont éventuellement séchées par exemple à l'étuve pendant une durée comprise entre 1 minute et 48 heures, par exmple entre 10 minutes et 24 heures par exemple 12 heures. La température de l'étuve peut être comprise entre 25 et 100 degrés celsius, par exemple 37°C.

Les billes de pectine contenant des particules selon l'invention ainsi obtenues peuvent aussi être lyophilisées.

Comme déjà indiqué, les particules éventuellement encapsulées peuvent, en outre, être enrobées avec un polymère tel que défini précédemment. A cet effet, l'enrobage peut s'effectuer avec une solution

ou une suspension d'Eudragit par exemple en utilisant un lit d'air fluidisé ou une turbine d'enrobage. Ces techniques sont bien connues de l'homme du métier dans le domaine de la galénique.

Un autre objet de la présente invention concerne les formes galéniques telles que décrites précédemment comme médicament. Ledit médicament peut comprendre, en outre, des composants bien connus de l'homme du métier dans le domaine pharmaceutique, comme des agents stabilisants, des agents émulsifiants, des agents de tonicité, des agents conservateurs, des colorants, des excipients, des liants, des lubrifiants.

Les formes galéniques selon l'invention peuvent être utilisées pour la prévention ou le traitement des effets indésirables liés à un déséquilibre de la flore intestinale et/ou colique suivant une antibiothérapie.

Un autre objet de l'invention consiste en l'utilisation d'une forme galénique selon l'invention pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement des effets indésirables liés à un déséquilibre de la flore intestinale et/ou colique suivant une antibiothérapie par exemple.

Les formes galéniques de l'invention peuvent être administrées sous toutes formes orales, notamment sous forme de gélules et de capsules. Les formes galéniques, peuvent être administrées avant, pendant ou après l'administration d'un antibiotique.

D'autres avantages pourront encore apparaître à l'homme du métier à la lecture des exemples ci-dessous, illustrés par les figures annexées, donnés à titre illustratif.

Brève description des figures

- La figure 1 représente un complexe chitosan-Fe(III).

- La figure 2 représente le schéma réactionnel de réticulation du chitosan par la glutaraldéhyde. L'étape A qui correspond à une étape de réticulation, a lieu sous agitation pendant 4 heures dans l'acétone.

- La figure 3 représente les images de microscopie électronique à balayage des particules de chitosan-Fe(III) (haut-gauche), de chitosan-Fe(II) (haut-droite), de chitosan-Cu (bas-gauche), de chitosan-Zn (bas-droite) après réticulation par la glutaraldéhyde et nettoyage.

- La figure 4 représente la cinétique d'adsorption de la ciprofloxacine à 400 g/mL par les différentes particules réticulées en milieu colique simulé. Pour comparaison nous avons ajouté la cinétique obtenue avec le charbon actif dans les mêmes conditions.

CH=particules de chitosan,

CH-Cu=particules de chitosan-cuivre,

CH-Zn=particules de chitosan-zinc,

CH-Fe(II)=particules de chitosan-Fer(II),

CH-Fe(III)=particules de chitosan-Fer(III),

CH-Cu=particules de chitosan-cuivre.

L'axe des ordonnées correspond la quantité de ciprofloxacine adsorbée (exprimée en μg) par les particules.

- La figure 5 représente les cinétiques d'adsorption de l'hydrocortisone par le charbon actif et des particules de chitosan-Fe(III). Les losanges représentent les particules de chitosan-Fe(III) et les carrés le charbon actif. L'axe des ordonnées correspond la quantité d'hydrocortisone adsorbée (exprimée en μg) par les particules.Ces résultats confirment la non spécificité des particules de chitosan-Fe(III) pour l'hydrocortisone.

- La figure 6 représente les cinétiques d'adsorption de la ciprofloxacine en conditions de compétition avec la nimesulide, pour les particules de chitosan-Fe(III) et de chitosan-Zn. Les losanges représentent la nimesulide et les carrés la ciprofloxacine. L'axe des ordonnées correspond à la quantité de molécule adsorbée (exprimée en μg) par les

particules. Ces résultats confirment la spécificité des particules de chitosan-Fe(III) et de chitosan-Zn pour la ciprofloxacine.

La figure 7 représente le procédé de fabrication des billes de pectine contenant les particules selon l'exemple 6.

A= suspension de particules

B= solution de pectine

C= mélange pectine/particules

D= pousse seringue

E= 50mL de solution d'acétate de zinc à 12%(p/v)

F= lavage 1minute dans 50mL d'eau

G= séchage

La figure 8 représente les images de microscopie électronique à balayage d'une bille de pectinate de zinc encapsulant les particules de chitosan-Fe(III) (en haut). L'image du milieu correspond à une bille enrobée avec de l'Eudragit RS, et celle du bas à une coupe d'une bille enrobée : on distingue bien la couche d'Eudragit.

La figure 9 représente les cinétiques d'adsorption des billes encapsulant les particules de chitosan-Fe(III) {ou CH-Fe(III)} dans le milieu intestinal simulé (SIM). Les billes ne sont pas enrobées par l'Eudragit.

La figure 10 représente les cinétiques d'adsorption des billes encapsulant les particules de chitosan-Fe(III) {ou CH-Fe(III)} dans le milieu colique simulé (SCM). Les billes ne sont pas enrobées par l'Eudragit et ont été pré-incubées dans le SIM contenant la ciprofloxacine à 400 g/mL. L'axe des ordonnées correspond à la quantité de ciprofloxacine adsorbée (exprimée en µg) par les particules encapsulées.

La figure 11 représente les cinétiques d'adsorption de la ciprofloxacine à 400 g/mL par des billes non enrobées (A) et enrobées par de l'Eudragit® (B) dans le SIM. L'axe des ordonnées correspond à la quantité de ciprofloxacine adsorbée (exprimée en µg) par les particules encapsulées.

 La figure 12 représente les cinétiques d'adsorption de la ciprofloxacine à 400 g/mL par des billes non enrobées (A) et enrobées par de l'Eudragit® (B) dans le SCM, après préincubation dans le SIM. L'axe des ordonnées correspond à la quantité de ciprofloxacine adsorbée (exprimée en µg) par les particules encapsulées.

EXEMPLES

Exemple 1 : Complexation des ions métalliques par le chitosan

Le Chitosan (de bas poids moléculaire - low molecular weight en anglais), l'acétate de zinc dihydrate et la ciprofloxacine proviennent de chez Fluka (Suisse). La glutaraldehyde, le sulfate de cuivre(II) et l'acétate de sodium proviennent de chez Prolabo (Paris-France). Le chlorure de fer (II) vient de chez Acros Organic (Geel, Belgique). L'acide hydroxyéthylpipérazine-éthanesulfonique (HEPES), le 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN), le tampon ammonia buffer (pH 10) pour complexométrie, l'hydrochlorure d'hydroxylamine, la 1,10-phenantroline et le nitrate de fer(III) ont été achetés chez Sigma-Aldrich (France). Les solvants de grade HPLC proviennent de chez by Carlo Erba (Italie).

Le chitosan a été complexé avec les ions métalliques (cuivre, fer (II), fer (III) et zinc) en dissolvant 1g de chitosan dans 100mL d'une solution aqueuse d'ions métalliques à 0,1M ($CuSO_4$, $FeCl_2$, $Fe(NO_3)_3$ et $Zn(CH_3COO)_2$). Les solutions ont alors été agitées pendant 12 heures à température ambiante (25ºC). La complexation a eu lieu via les groupements amines « libres » du chitosan selon la figure 1. Les ions métalliques sont ajoutés en léger excès par rapport au nombre de groupements amines « libres » du chitosan.

Exemple 2 : Préparation des formes galéniques

Les complexes chitosan-ion métallique (cuivre, fer (II), fer (III) et zinc) préparés dans l'exemple 1, sont soumis à une atomisation pour former les particules. 200mL de la solution de complexe sont atomisés au moyen d'un appareil spray-dryer B191 (Büchi, France). La buse possède un diamètre interne de 0,7mm et fonctionne avec de l'air comprimé à un débit de 600L/h. La température d'entrée de l'appareil est fixée à 150°C. La température de sortie est comprise entre 75 et 100°C. Le débit de la pompe amenant la solution à atomiser est fixé à 5mL/min. Les particules sont récupérées sont forme de poudre dans le cyclone de l'appareil.

Les particules sont ensuite suspendues dans l'acétone avec de la glutaraldéhyde (rapport molaire chitosan glutaraldéhyde 1:1) pendant 4 heures sous agitation magnétique pour obtenir la réticulation (figure 2). Les particules sont ensuite rincées abondamment avec un mélange éthanol/eau (2/1, v/v) pour éliminer la glutaraldéhyde et les ions métalliques résiduels. Les particules nettoyées ont finalement été séchées sous vide pendant 24h.

Les observations de microscopie électronique à balayage ont été réalisées avec un microscope LEO 1530 LEO 1530 (LEO Electron Microscopy Inc, Thornwood, NY) à une tension d'accélération de 3kV et un courant de 0,5mA. Les particules ont été déposées sur une bande adhésive conductrice (Euromedex, France) avant d'être métalisées avec 2nm d'une couche d'alliage platine-palladium avec un appareil Cressington 208HR (USA) .La microscopie électronique à balayage montre que les particules possèdent une surface relativement lisse (figure 3).

Dans les particules, la quantité d'ions métalliques associées au chitosan a été dosée par colorimétrie : 131mg Fe(III)/1g chitosan ; 45mg Fe(II)/1g chitosan et 87 mg Zn/1g chitosan. Plus particulièrement, la quantité de fer (Fe(II) ou Fe(III)) a été dosée en utilisant la 1,10-phenantroline par spectrophotométrie : Les particules de CH-Fe(II) ou de CH-Fe(III) ont d'abord été soumises à une hydrolyse en milieu acide (100mg de particules dans 5mL d'un mélange HCl : HNO_3 1 :1). 1mL de la

solution a ensuite été placé dans une fiole jaugée de 10mL dans laquelle ont été ajoutés 2mL d'une solution d'hydroxylamine HCl (1,4M), 5mL de tampon acétate (2M) et 2mL de 1,10 phenantroline (5mM). Après 20 minutes un complexe rouge-orangé se forme dont on mesure l'absorbance à 510nm par spectrophotométrie (Shimadzu, France) contre un blanc ne conteant pas le fer. L'absorbance à 510nm est proportionnelle à la quantité de fer. Plus particulièrement, la quantité de zinc a été dosée en utilisant une méthode décrite par M. Khoder et al. [7] et M. Arvand et al. [8]. (Les particules de CH-Zn ont d'abord été soumises à une hydrolyse en milieu acide (100mg de particules dans 5mL d'un mélange HCl : HNO_3 1 :1). 1mL de la solution a ensuite été placé dans une fiole jaugée de 10mL dans laquelle ont été ajoutés 1mL d'un tampon ammoniac (1M, pH=10) et 3mL de 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) ($5\square10^{\square4}$M) dans l'éthanol. Le volume est ensuite complété à 10mL avec de l'éthanol. La fiole est ensuite agitée et placée dans un bain thermostaté à 40ºC pendant 10minutes pour obtenir la formation du complexe PAN-Zn. L'absorbance à 550nm est est ensuite mesurée avec un spectrophotomètre Shimadzu (France) contre un blanc, elle est proportionnelle à la quantité de zinc.

Exemple 3 : Etude de l'adsorption de molécule indésirable

Les particules (1mg /mL) ont été incubées à 37°C dans un milieu colique simulé constitué de tampon HEPES (10mM) et de NaCl (145mM) contenant 5200PG/mL d'enzymes pectinolytiques (Pectinex, Sigma-Aldrich) contenant la ciprofloxacine à une concentration de 400 □g/mL, le pH a été ajusté à 5,5 avec du NaOH (1N). Les cinétiques d'adsorption de la ciprofloxacine par les particules réticulés de chitosan (contrôle), de chitosan-Cu, de chitosan-Fe(II), de chitosan-Fe(III) et de chitosan-Zn ont été évaluées pendant 5 heures (figure 4).

Pour les particules de chitosan, de chitosan-Cu, de chitosan-Fe(II), le plateau d'adsorption est atteint rapidement (30 minutes) et se situe à 50, 25 et 100 □g respectivement.

Le plateau d'adsorption est atteint moins rapidement pour le chitosan-Zn et le chitosan-Fe(III) : 5 heures et 3 heures respectivement. La quantité de ciprofloxacine adsorbée par le chitosan-Zn et le chitosan-Fe(III) est de 350 □g, soit presqu'autant que le charbon actif (400 □g) considéré comme un bon adsorbant mais non spécifique. Les particules de chitosan-Zn et de chitosan-Fe(III) peuvent donc être considérées comme des adsorbants particulièrement efficaces vis-à-vis de la ciprofloxacine.

Exemple 4 : Etude de de la specificité d'adsorption

L'adsorption spécifique des fluoroquinolones par les particules de l'invention est réalisée. Des particules chitosan-Fe(III) (1mg/mL) sont incubées à 37ºC dans un milieu colique simulé identique à celui décrit dans l'exemple 3 mais contenant de l'hydrocortisone, à la même concentration que la ciprofloxacine dans l'exemple 3, soit 400 □g/mL.

Alors que la ciprofloxacine est adsorbée à hauteur de 350 □g environ par les particules de chitosan-Fe(III), l'hydrocortisone est faiblement adsorbée par les particules de chitosan-Fe(III): 50 □g < (figure 5). En revanche, le charbon actif (1mg/mL) entraîne une forte adsorption de l'hydrocortisone. Ces résultats confirment la spécificité des particules selon l'invention pour les fluoroquinolones.

Exemple 5 : Compétition entre la ciprofloxacine et la nimesulide

L'adsorption spécifique d'un fluoroquinolone, la ciprofloxacine, par les particules de l'invention est réalisée en conditions de compétition avec la nimesulide. Des particules chitosan-Fe(III) et chitosan-Zn (1mg/mL) sont incubées à 37ºC dans un milieu colique simulé identique à celui décrit dans l'exemple 3 contenant de de la nimesulide (100 □g/mL) et de la ciprofloxacine (400 □g/mL). Pour cet exemple le pH a été ajusté à 6.

Alors que la ciprofloxacine est adsorbée à hauteur de 350 □g environ par les particules de chitosan-Zn et à hauteur de 100 μg pour les particules de chitosan-Fe(III), la nimesulide est faiblement adsorbée par les deux

types de particules: 10 □g < (figure 6). Ces résultats confirment la spécificité des particules selon l'invention pour les fluoroquinolones.

Exemple 6 : Encapsulation des particules

La pectine, polysaccharide naturel (extrait à partir d'agrumes, famille des citrus) est employée sous sa forme amidée (19 à 23%) et faiblement méthylée (22 à 28 %). Nous l'obtenons auprès de Cargill (Belgique) sous le nom de marque Unipectine OG175C.

Préparation de billes ne contenant pas de particules

Des billes ne contenant pas de particules sont préparées en introduisant goutte-à-goutte, à travers une buse d'un diamètre interne de 0,8 mm, une solution aqueuse de pectine à une concentration de 1 à 10 % (p/v) dans une solution d'un sel de zinc tel que l'acétate de zinc (0,5 à 12% (p/v)) ou un sel de calcium tel que le chlorure de calcium (0,5% à 12% (p/v)), pour former des billes de pectinate de zinc ou de pectinate de calcium. Les billes obtenues sont récupérées après un temps de résidence de 30 minutes dans le bain des contre-ions. Les billes ainsi obtenues sont ensuite récupérées par filtration, rincées 3 fois 1 minute à l'eau ultra-pure (conductivité 18,2MegaOhms.cm, système de purification Synergy de Millipore, France) afin d'éliminer les ions divalents qui ne participent pas au réseau, et séchées à l'étuve à 37°C pendant 12 heures.

Préparation de billes contenant des particules

La préparation de billes contenant des particules de chitosan ou de chitosan-metal est légèrement différente (figure 7). Les particules sont suspendues dans l'eau à une concentration de 4% (p/v). Une solution de pectine à 4% (p/v) est ensuite ajoutée à la suspension à volume égal et l'ensemble est mélangé au moyen d'un agitateur du type vortex (commercialisé par exemple par la société VWR) ou avec une pâle d'agitation, par exemple hélicoïdale. Les billes contenant les particules sont alors formées en introduisant goutte-à-goutte, à travers une buse d'un

diamètre interne de 0,8 mm, le mélange pectine/particules dans une solution d'un sel de zinc tel que l'acétate de zinc (0,5 à 12% (p/v)) ou un sel de calcium tel que le chlorure de calcium (0,5% à 12% (p/v)), pour former des billes de pectinate de zinc ou de pectinate de calcium (Figure 7). Les billes obtenues sont récupérées après un temps de résidence de 30 minutes dans le bain des contre-ions. Les billes ainsi obtenues sont ensuite récupérées par filtration, rincées 3 fois 1 minute à l'eau ultra-pure (conductivité 18,2 MegaOhms.cm, système de purification Synergy de Millipore, France) afin d'éliminer les ions divalents qui ne participent pas au réseau, et séchées à l'étuve à 37°C pendant 12 heures. Les interactions électrostatiques entre les groupements carboxylate de la pectine et les groupements amine du chitosan entraînent une gélification du mélange pectine/particules. Le temps de gélification dépend de la concentration initiale des deux composants.

Billes de pectine contenant du chitosan-Fe(III)

Du fait des problèmes de gélification, pour une concentration de pectine finale dans le mélange de 3% (p/v), il est possible de formuler des billes sphériques contenant jusqu'à 1,5% (p/v) de chitosan-Fe(III). Pour une concentration de pectine finale dans le mélange de 2,5% (p/v), il est possible de formuler des billes sphériques contenant jusqu'à 2,5% (p/v)de chitosan-Fe(III). Pour une concentration de pectine finale dans le mélange de 2% (p/v), il est possible de formuler des billes sphériques contenant jusqu'à 2% (p/v) de chitosan-Fe (III). Pour une concentration de pectine finale dans le mélange de 1,5% (p/v), il est possible de formuler des billes sphériques contenant jusqu'à 2,5% (p/v) de chitosan-Fe (III). Au-delà de ces concentrations de particules la suspension peut devenir trop visqueuse et des sortes de vermicelles peuvent être obtenus.

Billes de pectine contenant du chitosan-Zn

Pour une concentration finale de pectine dans le mélange de 1,5% (p/v), il est possible de formuler des billes sphériques contenant jusquà 0,5% de chitosan-Zn. Au-delà de ces concentrations de particules, la suspension peut devenir trop visqueuse et des sortes de vermicelles peuvent être obtenus. Avec le chitosan-Zn, les ions de Zn participent à la gélification de la pectine.

L'observation des billes en microscopies optique et électronique montre des particules de formes sphériques, de tailles assez homogènes entre 1 à 1,3 mm et d'une masse qui varie de 1 à 2 mg. Une dispersion uniforme des particules de chitosan-métal ainsi qu'une surface rugueuse est observées en microscopie électronique à balayage

Exemple 7 : Etude de l'adsorption de molécule indésirable

Les billes de pectinate de zinc encapsulant des particules de chitosan-métal ont été incubées dans le milieu intestinal simulé (SIM) contenant 400 □g/mL de ciprofloxacine pendant 5 heures. Le milieu intestinal simulé est une solution aqueuse de tampon HEPES (30mM) contenant 1% de pancréatine (p/v), le pH est ajusté à 6,8 avec du NaOH 0,2M. Les billes gonflent mais restent intactes au terme de ces 5 heures d'incubation. Nous avons tout de même observé qu'une partie de la ciprofloxacine dans le SIM était adsorbée : environ 100 à 120 □g au bout de 5 heures (figure 9).

Après pré-incubation dans le SIM contenant la ciprofloxacine, les billes conservent leur pouvoir adsorbant puisque jusqu'à 330 □g de ciprofloxacine dans le milieu colique simulé (SCM, décrit ci-dessus) est adsorbée (figure 10).

Si les quantités de ciprofloxacine dans le SIM et dans le SCM adsorbées sont additionnées, on peut trouver que l'équivalent en bille de 1 mg de particules de chitosan-Fe(III) réussit à adsorber environ 350 □g de ciprofloxacine, soit ce qui avait été obtenu pour les particules non

encapsulées. L'encapsulation des particules dans les billes de pectinate de zinc ne modifie donc pas leur pouvoir adsorbant.

Exemple 8 : Enrobage des particules encapsulées

Afin de limiter l'adsorption dans le milieu intestinal simulé (SIM), nous avons enrobé les billes sèches avec 5 % (p/p) d'Eudragit® RS. Pour cela, 5g d'Eudragit® RS et 1g de PEG 300 (Sigma-Aldrich) sont dissouts dans 300mL d'un mélange acétone/éthanol (2/1, v/v). La solution est ensuite atomisée au moyen d'un pulvérisateur manuel sur les billes sèches maintenues en rotation à 20 tours/minute dans une miniturbine chauffée à 37ºC avec un pistolet à air chaud (Steinel, Radiospares, France). La prise en poids de 5 à 10% a été vérifiée par pesée. L'homogénéité de l'enrobage est vérifiée par microscopie électronique à balayage (figure 8).

L'incubation des billes enrobées dans le SIM décrit ci-dessus à 400 □g/mL de ciprofloxacine montre que l'Eudragit® RS permet de limiter l'adsorption de la ciprofloxacine : 25 – 30 □g au lieu de 100 à 120 □g pour les billes non enrobées (figure 11). Cette couche d'Eudragit ne modifie pas le pouvoir adsorbant des billes : après préincubation dans le SIM, les billes enrobées peuvent encore adsorber 300 □g de ciprofloxacine (figure 12).

Listes des références

[1] Bartlett J.G., New England Journal of Medicine, 346, p.334-339, 2002.

[2] Holmberg S.D. et al., New England Journal of Medicine, 311, 617, 1984.

[3] Bartlett J.G., *Clostridium difficile* infection : pathophysiology and diagnosis. Seminar in Gastrointestinal Disease 8, 12, 1997.

[4] Broussignac, P. Chim. Ind. Gén. Chim., no. 99, p. 1241-1246, 1968.

[5] Médicaments et environnement – rapport de l'academie nationale de pharmacie, p. 23/103 – 25/103, septembre 2008

[6] K.C. Gupta et al., Carbohydrate Polymers, 66, p. 43-45, 2006 ; K.C. Gupta et al., Carbohydrate Research, 342, p. 2244-2252, 2007.

[7] M. Khoder et al., International Journal of Pharmaceutics, 379, p. 251-259, 2009.

[8] M. Arvand et al., J. Anal. Chem., 62, p. 342–347, 2007.

[9] I. El-Gibaly, International Journal of Pharmaceutics, 232, p. 199–211, 2002.

REVENDICATIONS

1. Forme galénique comprenant des particules capables d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables présentes dans le tube digestif, lesdites particules comprenant un polymère cationique associé à au moins un ion métallique.

2. Forme galénique selon la revendication 1, dans laquelle le polymère cationique est choisi dans le groupe comportant le polyéthylèneimine, la polylysine, la polyarginine, un polysaccharide cationique.

3. Forme galénique selon la revendication 2, dans laquelle le polysaccharide cationique est un polysaccharide comportant des groupements amines.

4. Forme galénique selon l'une des revendications 2 ou 3, dans laquelle le polysaccharide cationique est le chitosan.

5. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans laquelle les particules ont un diamètre allant de 0,01 □m à 1 mm.

6. Forme galénique selon la revendication 4, dans laquelle le chitosan présente un taux de désacétylation d'au moins 50%.

7. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans laquelle l'ion métallique est choisi parmi les métaux alcalinoterreux, les métaux de transition ou leur mélange.

8. Forme galénique selon la revendication 7, dans lequel l'ion métallique est choisi dans le groupe comprenant le fer, le cuivre, le zinc ou leur mélange.

9. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, dans laquelle pour 1 g de polymère cationique, la quantité d'ion(s) métallique(s) associé(s) est de 1 à 300 mg.

10. Forme galénique selon l'une des revendications 4 à 8, dans laquelle pour 1 g de chitosan, la quantité d'ion(s) métallique(s) associé(s) est de 20 à 200 mg.

11. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, dans laquelle lorsque les molécules indésirables sont des antibiotiques, les particules contiennent, en outre, un agent capable d'inactiver lesdits antibiotiques.

12. Forme galénique selon la revendication 11, dans laquelle l'agent capable d'inactiver les antibiotiques est une enzyme.

13. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, dans laquelle les particules présentent un degré de réticulation allant de 0 à 100%.

14. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, dans laquelle les particules sont encapsulées dans des billes de pectine.

15. Forme galénique selon la revendication 14 dans laquelle les billes de pectine sont des billes de pectinate de zinc ou de pectinate de calcium.

16. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications des revendications 14 ou 15, dans laquelle la concentration de pectine est de 5 à 90% en masse par rapport à la masse totale de la forme galénique et celle de l'association polymère cationique-ion(s) métallique(s) est de 5 à 90% en masse par rapport à la masse totale de la forme galénique.

17. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications 14 à 16, dans laquelle les billes de pectines sont de forme sphérique et de diamètre allant de 0,2 à 3 mm.

18. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 17, dans laquelle les particules éventuellement encapsulées dans des billes de pectines, sont enrobées avec :

- un polymère cationique choisi dans le groupe comprenant la polyéthylèneimine, polylysine, polyarginine, DEAE dextran ;
- un polymère cellulosique choisi dans le groupe comprenant l'hydroxypropyle cellulose, l'hydroxyéthyle cellulose, l'hydroxyméthyle cellulose, l'hydroxypropyle méthyle cellulose, l'hydroxypropyle méthyle cellulose acétate succinate, l'hydroxypropyle méthyle cellulose phtalate, méthyle cellulose, éthyle cellulose, acétate de cellulose, cétate de phtalate cellulose, acétate trimellitate cellulose, carboxyméthyle cellulose de sodium ;
- un polymère d'acide acrylique, d'acide méthacrylique, de éthylacrylate, d'éthyleacrylate, de méthyle méthacrylate et/ou d' éthyle méthacrylate choisi dans le groupe comprenant les Eudragits® notamment Eudragit® NE, RL et RS, Eudragit® L30D-55 et L100-55, Eudragit® L100, Eudragit® S, et Eudragit® FS30D ;
- un polymère vinylique choisi dans le groupe comprenant le polyvinyle pyrrolidone, le vinyle actétate, le vinyle acétate phtalate, le vinyle acétate d'acide crotonique, éthylène-vinyle acétate.

19. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, dans laquelle les particules sont capables d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables choisies dans le groupe comprenant les quinolones, les aminoglucosides, les beta-lactames, les macrolides, les sulfamides, les antituberculeux, les tétracyclines.

20. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 19, dans laquelle les particules sont capables d'adsorber, de manière spécifique, les molécules indésirables choisies dans le groupe comprenant :

- les substances toxiques domestiques ;
- les résidus médicamenteux ou les métabolites des médicaments qui sont ingérés de manière volontaire et/ou accidentelle ;
- les résidus médicamenteux ou les métabolites des médicaments les plus employés en médécine humaine ou vétérinaire susceptibles de se retrouver dans les eaux.

21. Procédé de préparation d'une forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, dans lequel :

(a) on dissout du chitosan dans une solution aqueuse d'un sel métallique ou d'un mélange des sels métalliques, dans des conditions pH < 7, de manière à ce que les ions métalliques s'associent au polymère cationique ;

(b) on soumet la solution obtenue en *(a)* à une atomisation-séchage, de manière à obtenir des particules de polymère cationique associé à au moins un ion métallique ;

(c) on procède éventuellement à la réticulation des particules obtenues à l'étape *(b)* dans un solvant organique en présence d'un agent réticulant.

22. Forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 20 comme médicament.

23. Utilisation d'une forme galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 20 pour la fabrication d'un médicament destiné à la prévention ou au traitement des effets indésirables liés à un déséquilibre de la flore intestinale et/ou colique suivant une antibiothérapie.

24. Utilisation selon la revendication 23 selon laquelle le médicament est administré avant, pendant ou après l'administration d'un antibiotique.

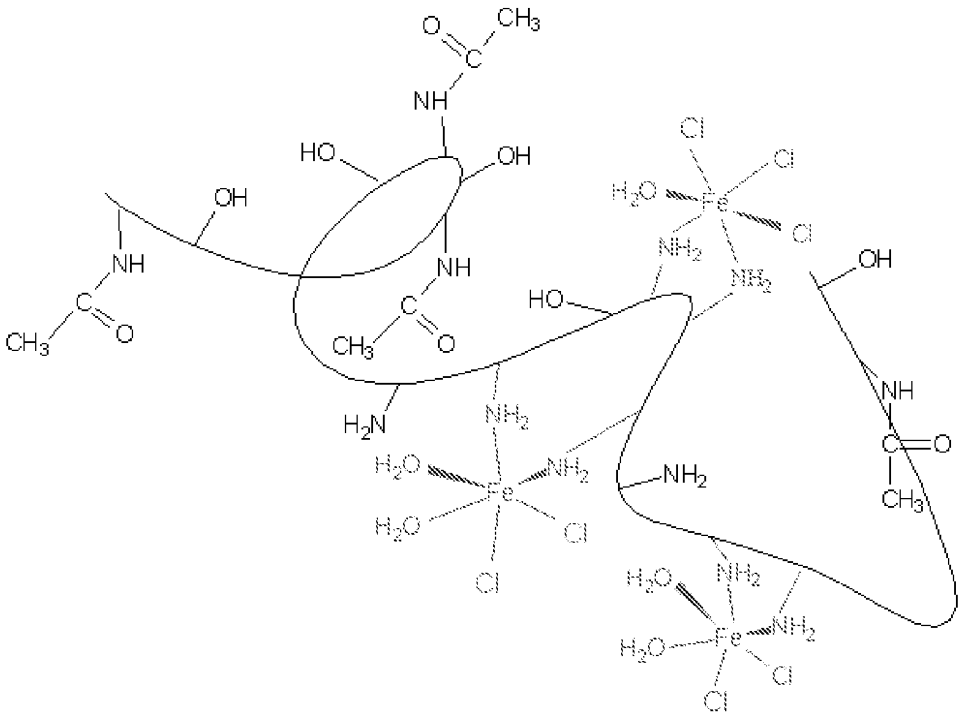

O
CH3
C
NH
HO
OH
OH
NH
C
CH3
O
NH
C
CH3
O
H2N
NH2
H2O
Fe
NH2
H2O
Cl
Cl
Cl
H2O
Fe
NH2
NH2
Cl
NH2
HO
OH
NH
C
O
CH3
H2O
NH2
Fe
NH2
H2O
Cl
Cl

Figure 1

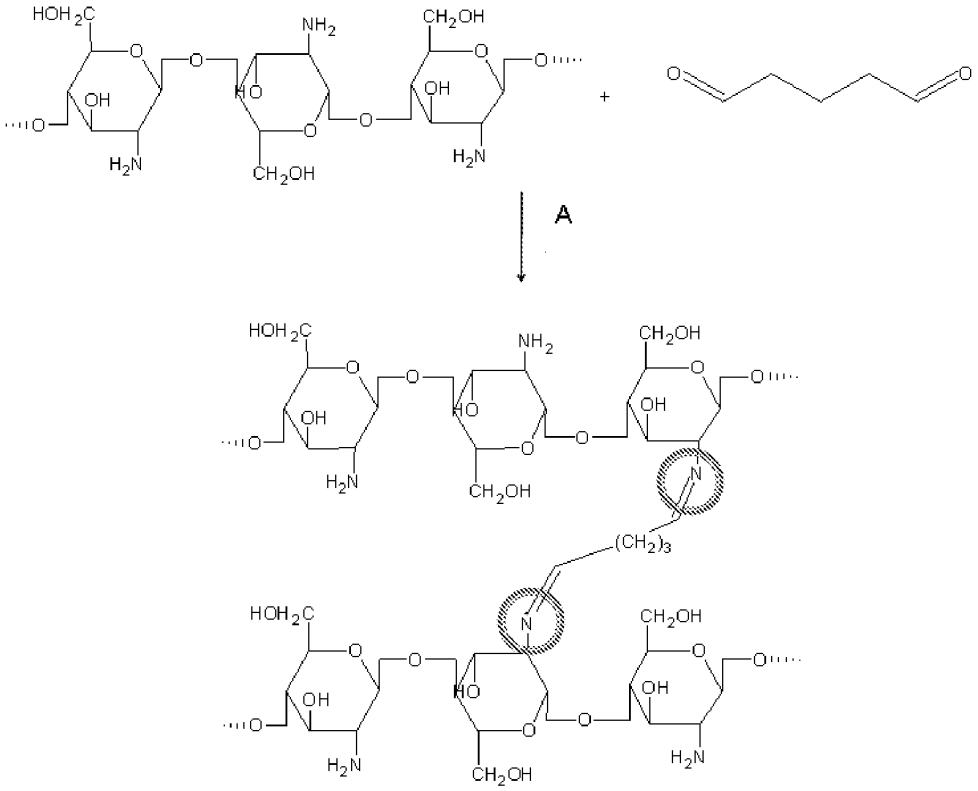


Figure 2

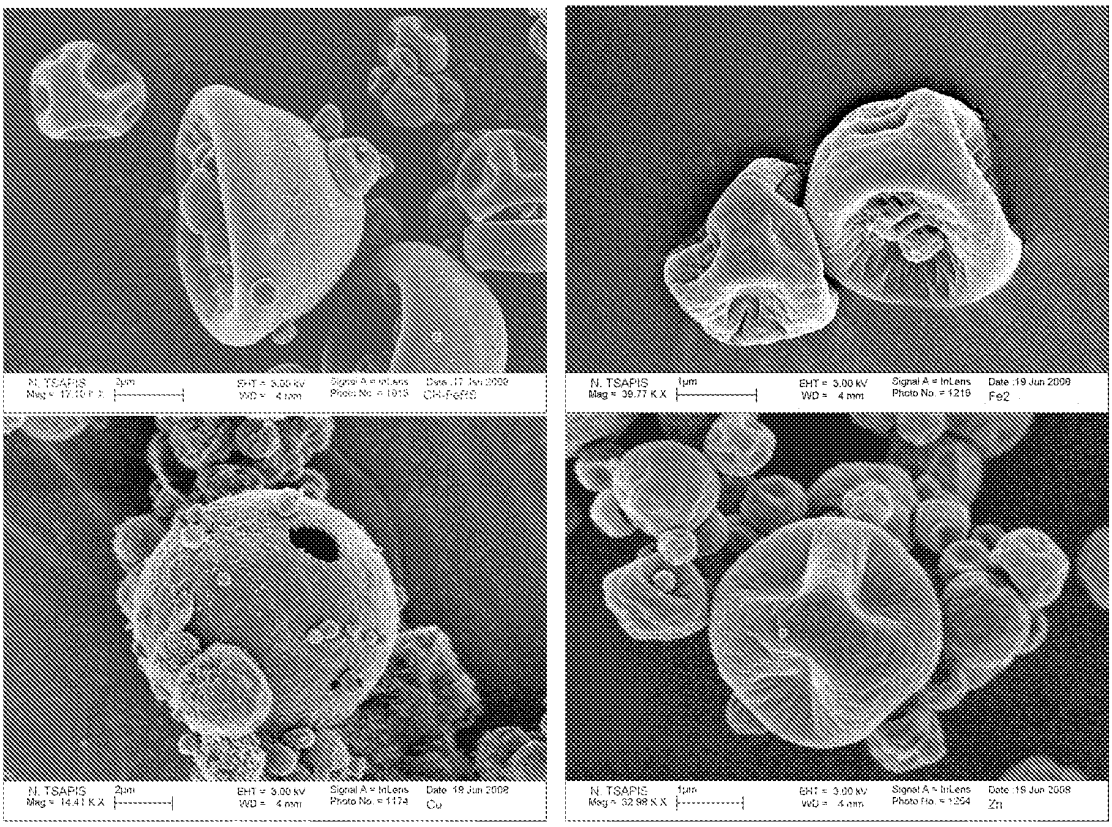

N. TSAPIS
Mag = 39.77 K X
1µm
EHT = 3.00 kV
WD = 4 mm
Signal A = InLens
Photo No. = 1219
Date :19 Jun 2008
Fe2
N. TSAPIS
Mag = 14.41 K X
2µm
EHT = 3.00 kV
WD = 4 mm
Signal A = InLens
Photo No. = 1174
Date :19 Jun 2008
Cu
N. TSAPIS
Mag = 32.98 K X
1µm
EHT = 3.00 kV
WD = 4 mm
Signal A = InLens
Photo No. = 1254
Date :19 Jun 2008
Zn

Figure 3

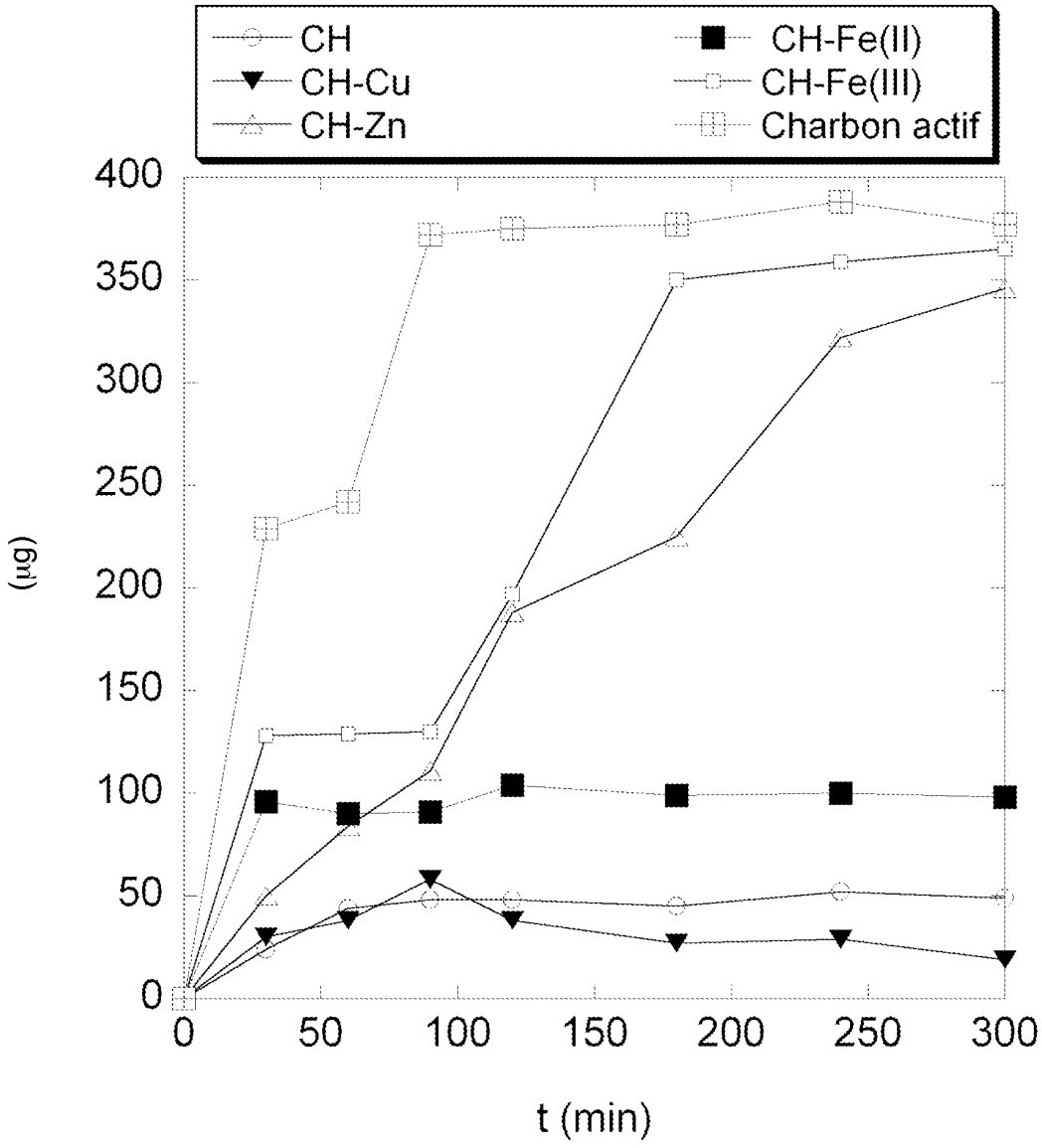

CH
CH-Cu
CH-Zn
CH-Fe(II)
CH-Fe(III)
Charbon actif
400
350
300
250
200
150
100
50
0
(µg)
0
50
100
150
200
250
300
t (min)

Figure 4

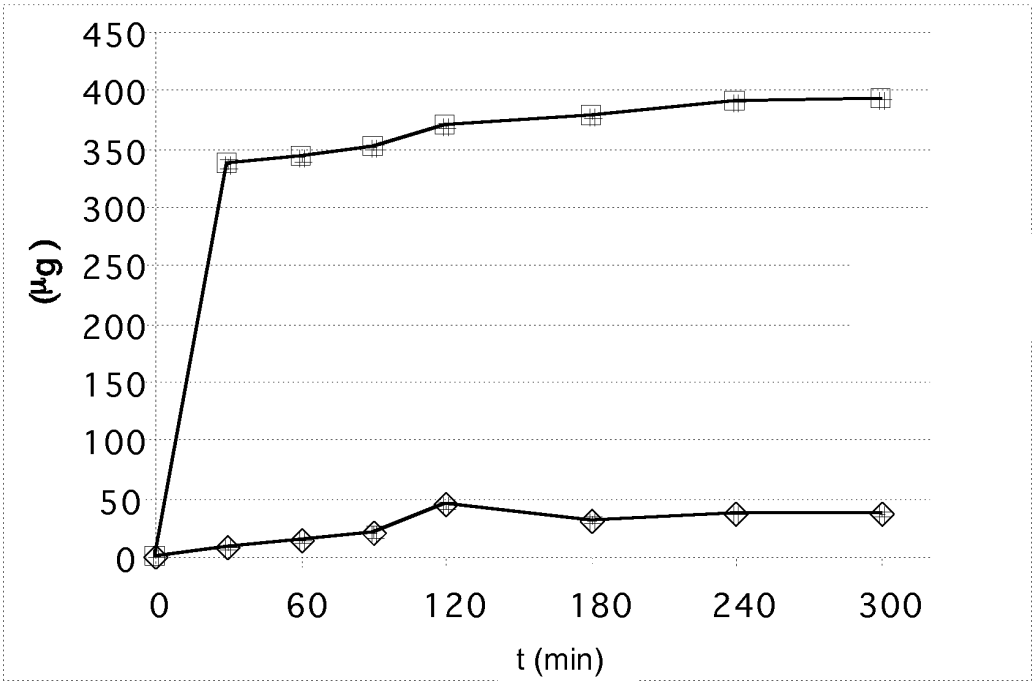
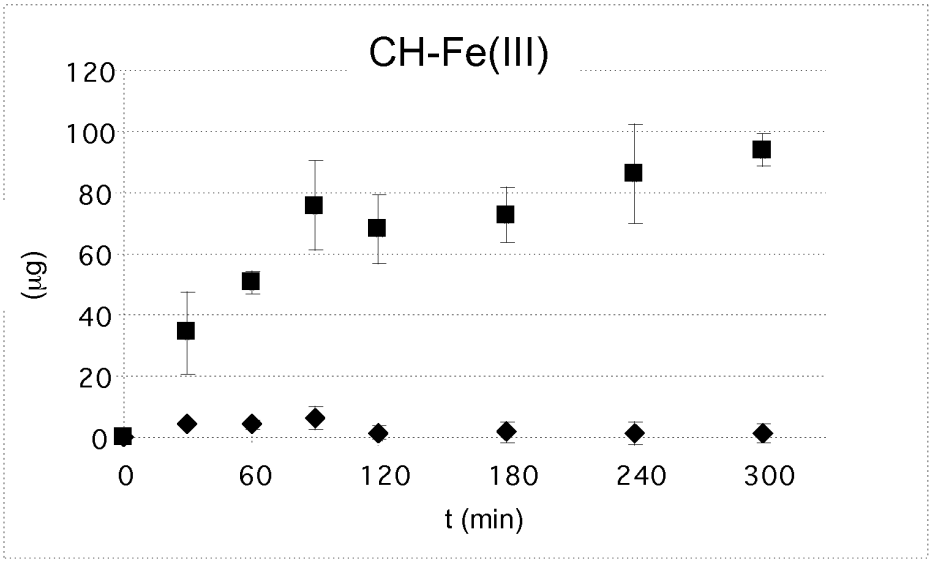


Figure 5


CH-Fe(III)
120
100
80
60
40
20
0
(µg)
0
60
120
180
240
300
t (min)

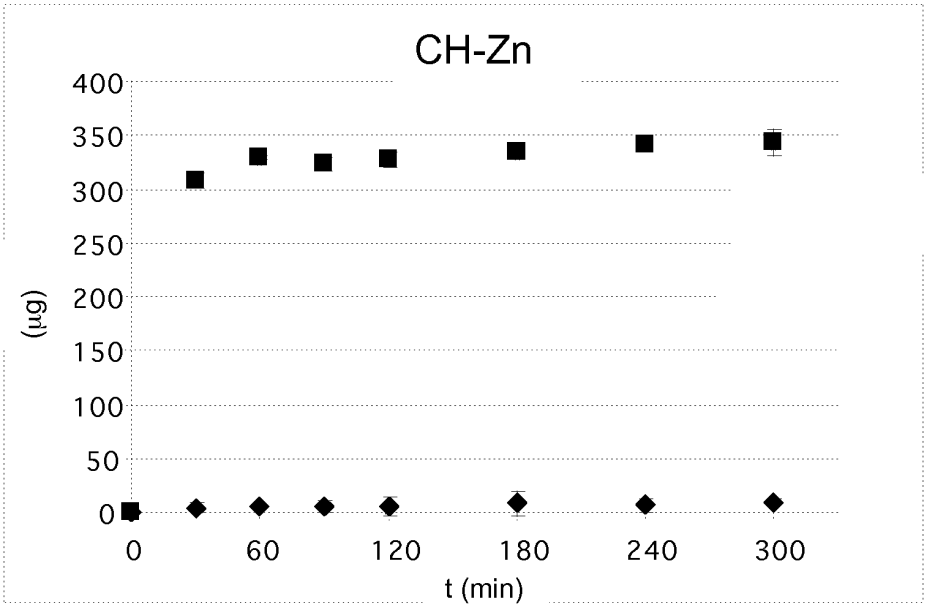

CH-Zn
400
350
300
250
200
150
100
50
0
(µg)
0
60
120
180
240
300
t (min)

Figure 6

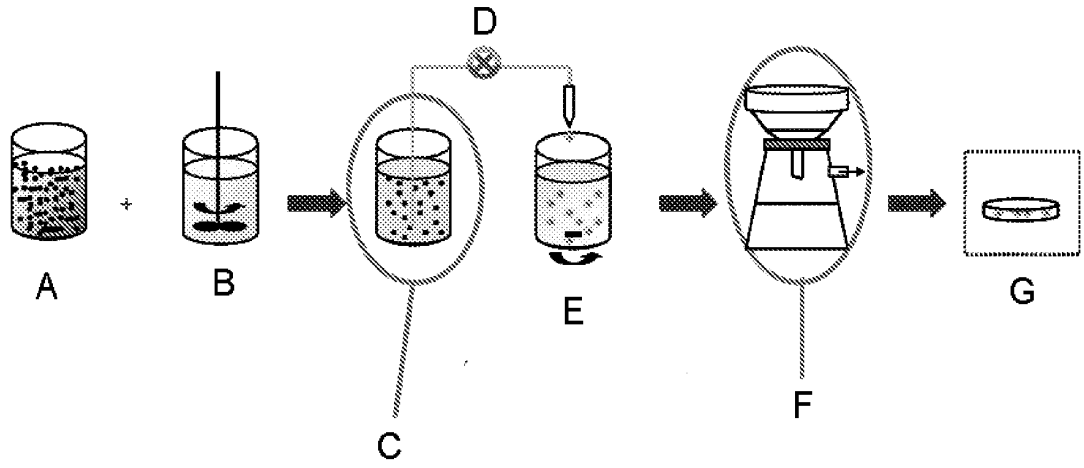


Figure 7

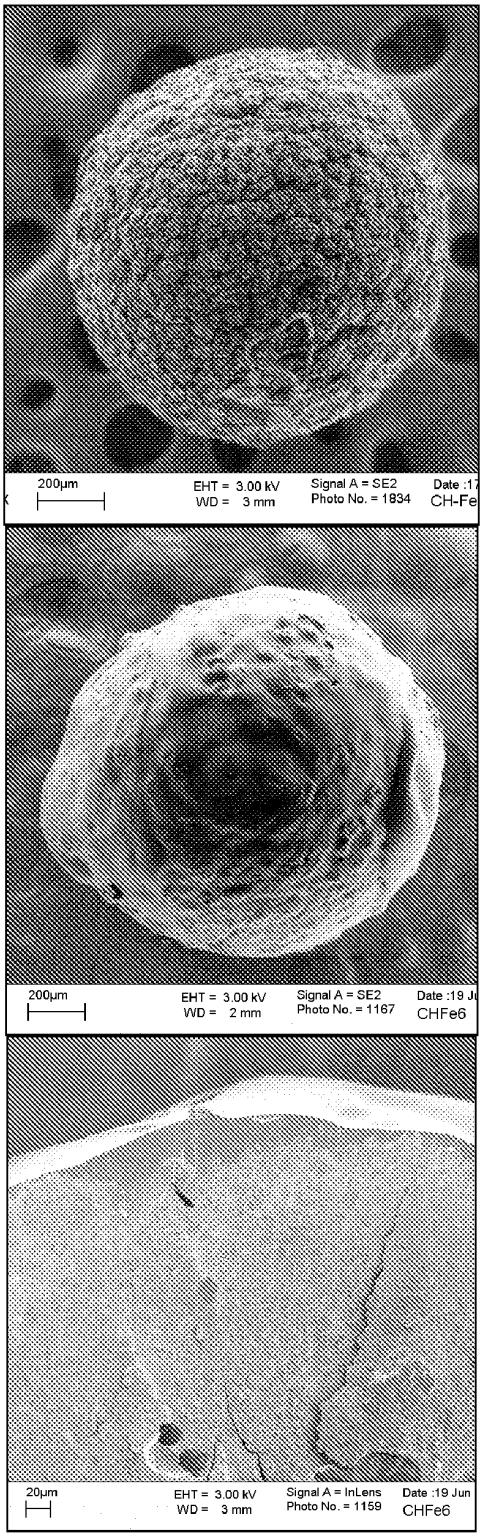

200µm
EHT = 3.00 kV
WD = 3 mm
Signal A = SE2
Photo No. = 1834
CH-Fe
200µm
EHT = 3.00 kV
WD = 2 mm
Signal A = SE2
Photo No. = 1167
CHFe6
20µm
EHT = 3.00 kV
WD = 3 mm
Signal A = InLens
Photo No. = 1159
Date :19 Jun
CHFe6

Figure 8

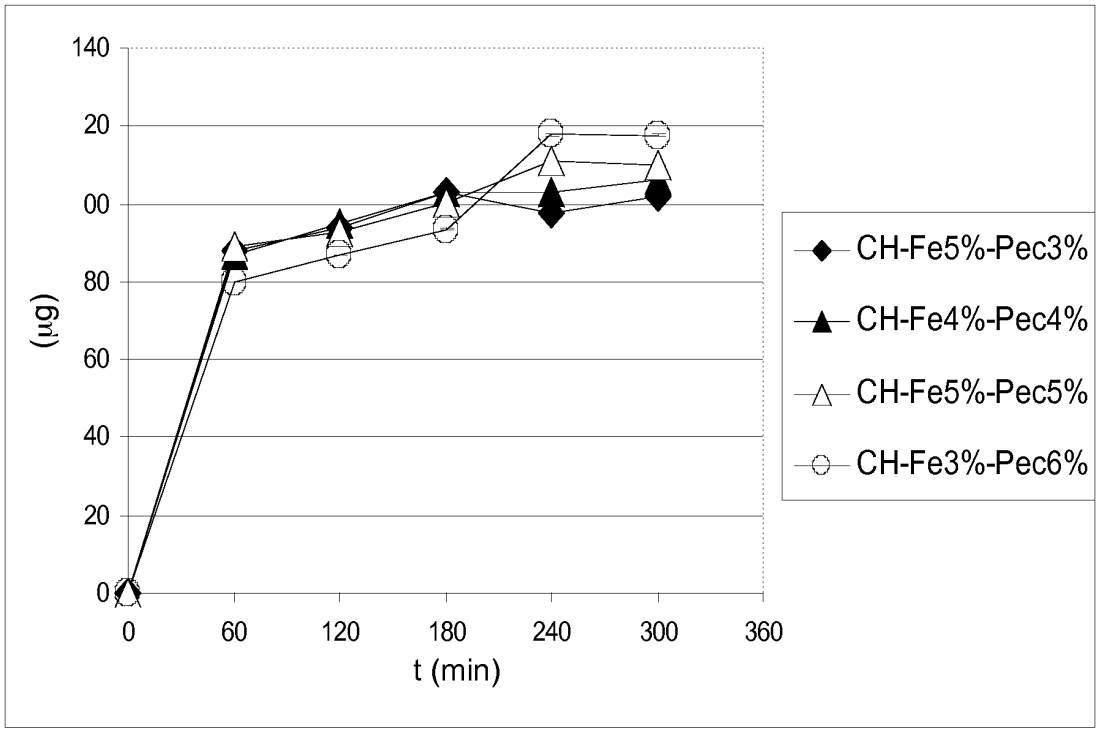

140
20
00
80
60
40
20
0
(µg)
0
60
120
180
240
300
360
t (min)
CH-Fe5%-Pec3%
CH-Fe4%-Pec4%
CH-Fe5%-Pec5%
CH-Fe3%-Pec6%

Figure 9

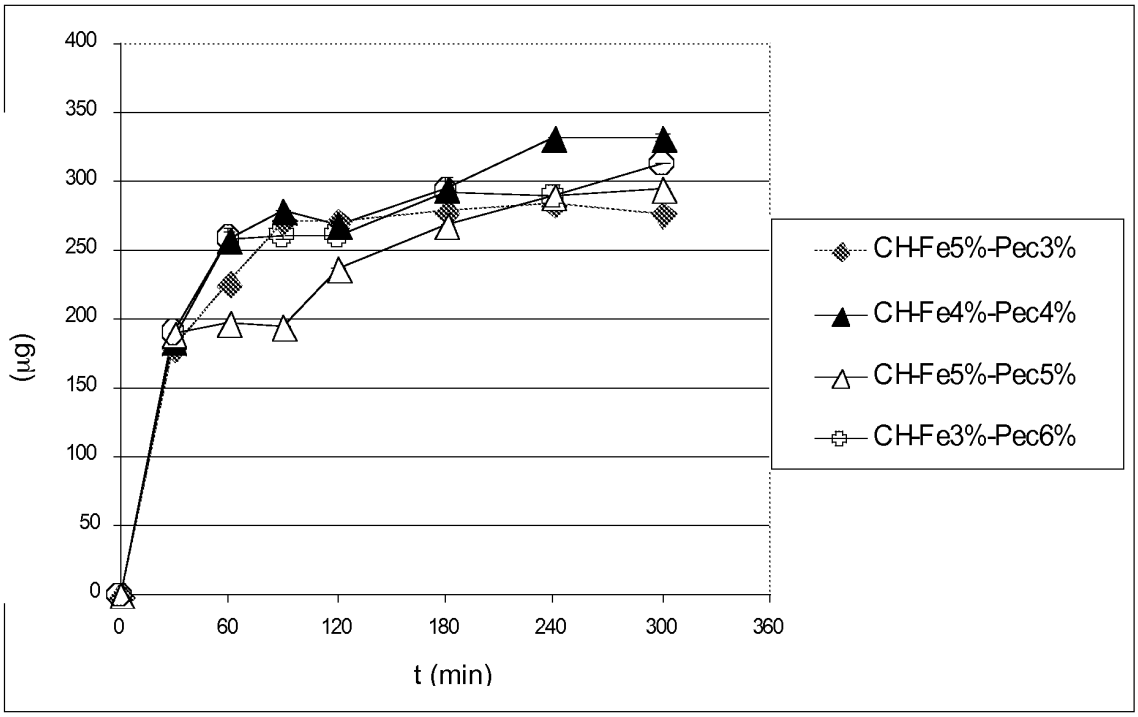
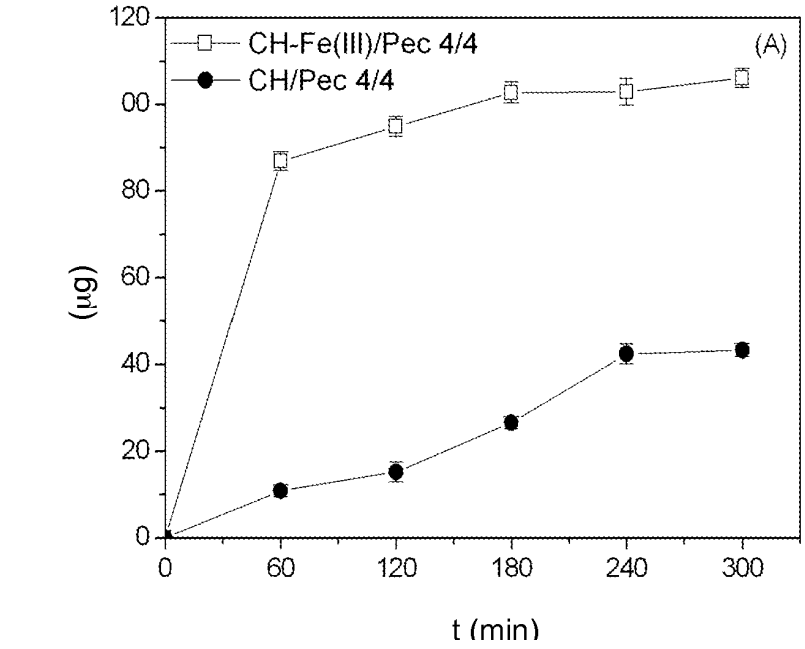

400
350
300
250
200
150
100
50
0
(µg)
0
60
120
180
240
300
360
t (min)
CH-Fe5%-Pec3%
CH-Fe4%-Pec4%
CH-Fe5%-Pec5%
CH-Fe3%-Pec6%

Figure 10


CH-Fe(III)/Pec 4/4
CH/Pec 4/4
(A)
(µg)
t (min)
0
20
40
60
80
00
120
0
60
120
180
240
300

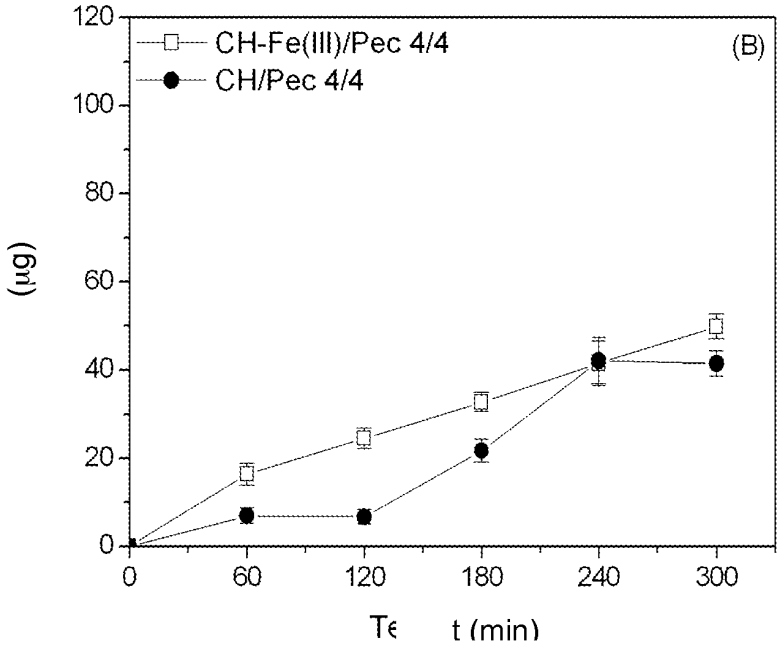
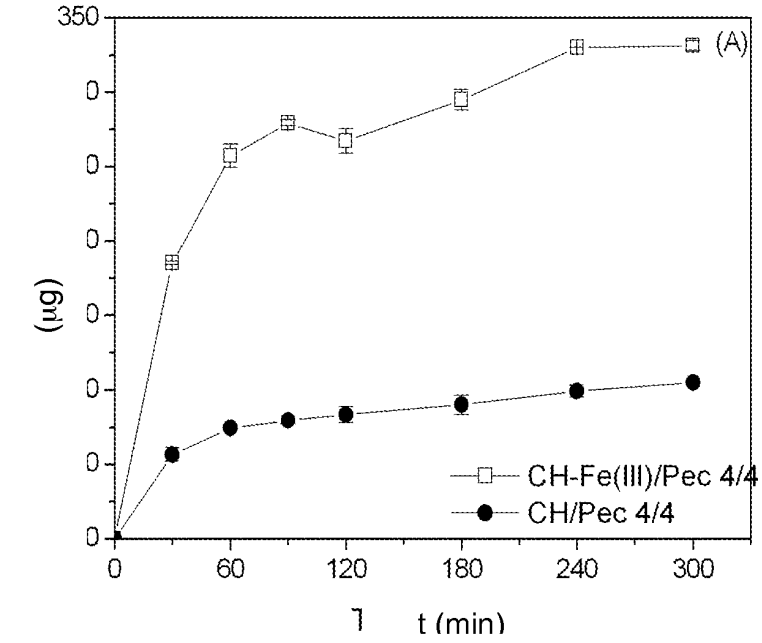

CH-Fe(III)/Pec 4/4
CH/Pec 4/4
(B)
(µg)
t (min)
0
20
40
60
80
100
120
0
60
120
180
240
300

Figure 11


(A)
(µg)
CH-Fe(III)/Pec 4/4
CH/Pec 4/4
t (min)

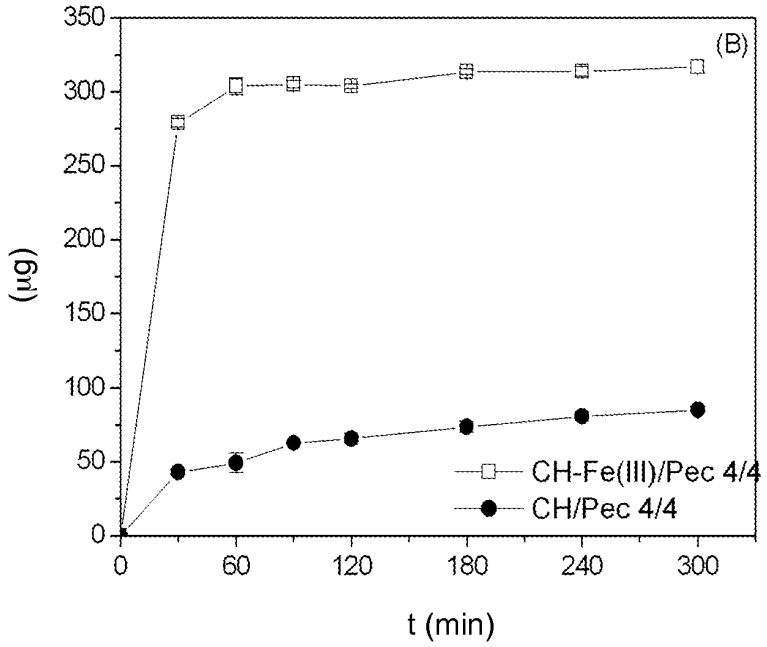

(B)
(µg)
CH-Fe(III)/Pec 4/4
CH/Pec 4/4
t (min)

Figure 12

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement national

FA 727820
FR 0956542

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	ZHOU Y -T ET AL: "Removal of Cu<2+> from aqueous solution by chitosan-coated magnetic nanoparticles modified with [alpha]-ketoglutaric acid" JOURNAL OF COLLOID AND INTERFACE SCIENCE 20090201 US LNKD-DOI:10.1016/J.JCIS.2008.10.026, vol. 330, no. 1, 1 février 2009 (2009-02-01), pages 29-37, XP002578637 ISSN: 0021-9797	1-13,19, 20	A61K9/14 A61K47/36 A61K47/02 A61P1/00
Y	* page 30 - colonne droite * * abrégé *	14-18, 21-24	

Y	FR 2 229 454 A1 (ATOMIC ENERGY AUTHORITY UK [GB]) 13 décembre 1974 (1974-12-13) * exemple 1 *	21	

Y	WO 2004/016248 A2 (CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]; DA VOLTERRA [FR]; BOURGEOIS SANDRINE [FR]) 26 février 2004 (2004-02-26) * exemple 1 * * abrégé *	14-18	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A61K

Y	WANG XIAOHUI ET AL: "Chitosan-Cu(II), Zn(II) and Fe(II) complexes as antimicrobial agent: Synthesis, characterization and structure-activity study" AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. ABSTRACTS OF PAPER. AT THE NATIONAL MEETING, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 229, no. Part 2, 17 mars 2005 (2005-03-17), page U1143, XP009132206 ISSN: 0065-7727 * abrégé *	22-24	

	-/--		

1

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
21 avril 2010	Vázquez Lantes, M

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement national

FA 727820
FR 0956542

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y	CHUN YOUNG-HYUN ET AL: "Antimicrobial activity of chitosan-alginate-Fe(II) complex" HAN'GUK-MISAENGMUL, SAENGMYONG-KONGHAKHOE-JI = KOREAN JOURNAL OF MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, KOREA, vol. 31, no. 1, 1 mars 2003 (2003-03-01), pages 90-93, XP009132214 ISSN: 1598-642X * abrégé *	22-24	

Y	WANG Y U -J ET AL: "Adsorption and cosorption of tetracycline and copper(ll) on montmorillonite as affected by solution pH" ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY 20080501 US LNKD- DOI:10.1021/ES702641A, vol. 42, no. 9, 1 mai 2008 (2008-05-01), pages 3254-3259, XP002578638 * abrégé *	22-24	
	-----		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)

1

Date d'achèvement de la recherche	Examinateur
21 avril 2010	Vázquez Lantes, M

CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS

X : particulièrement pertinent à lui seul
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie
A : arrière-plan technologique
O : divulgation non-écrite
P : document intercalaire

T : théorie ou principe à la base de l'invention
E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure.
D : cité dans la demande
L : cité pour d'autres raisons

& : membre de la même famille, document correspondant

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0956542 FA 727820

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 21-04-2010
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2229454 A1	13-12-1974	DE 2423895 A1	05-12-1974
		GB 1462049 A	19-01-1977
WO 2004016248 A2	26-02-2004	AT 432066 T	15-06-2009
		AU 2003274229 A1	03-03-2004
		BR 0313469 A	12-07-2005
		CA 2495291 A1	26-02-2004
		CN 1681480 A	12-10-2005
		EP 1526841 A2	04-05-2005
		EP 1992336 A2	19-11-2008
		ES 2327630 T3	02-11-2009
		FR 2843302 A1	13-02-2004
		JP 2006500359 T	05-01-2006
		KR 20050083628 A	26-08-2005
		MX PA05001607 A	20-09-2005
		US 2009162339 A1	25-06-2009
		US 2005249716 A1	10-11-2005

EPO FORM P0465