

| | |
|-------------------------------------|------------------------|
| DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO | 102021000016784 |
| Data Deposito | 25/06/2021 |
| Data Pubblicazione | 25/12/2022 |

Classifiche IPC

| Sezione | Classe | Sottoclasse | Gruppo | Sottogruppo |
|----------------|---------------|--------------------|---------------|--------------------|
| A | 23 | L | 33 | 16 |

| Sezione | Classe | Sottoclasse | Gruppo | Sottogruppo |
|----------------|---------------|--------------------|---------------|--------------------|
| A | 23 | L | 33 | 22 |

| Sezione | Classe | Sottoclasse | Gruppo | Sottogruppo |
|----------------|---------------|--------------------|---------------|--------------------|
| A | 23 | L | 33 | 24 |

| Sezione | Classe | Sottoclasse | Gruppo | Sottogruppo |
|----------------|---------------|--------------------|---------------|--------------------|
| A | 23 | P | 10 | 20 |

Titolo

Composizione per il rilascio di ioni Magnesio

DESCRIZIONE

Della Domanda di Brevetto per Invenzione Industriale dal Titolo:

“Composizione per il rilascio di ioni Magnesio”

a nome : NATURAL WAY LABORATORIES S.R.L.

inventori : COTTICA Matteo, COATTO Massimo, ACCIARRI Marta,
BOCCHI Maurizio

* * * * *

Stato dell'arte

Il Magnesio è presente nel corpo umano dove svolge molteplici ruoli. A livello molecolare, il Magnesio è un cofattore di oltre 300 enzimi responsabili di alcune delle più importanti attività biologiche nei mammiferi, compreso l'uomo. Nelle cellule viventi, il Magnesio è coinvolto nell'omeostasi di altri minerali, come sodio, potassio e calcio, e nella formazione, trasferimento, stoccaggio e utilizzo dell'adenosina trifosfato (ATP), una delle principali fonti di energia nelle cellule viventi. Nel corpo umano, il Magnesio è coinvolto nel mantenimento della normale funzione muscolare e nervosa, del ritmo cardiaco, della forza ossea e della salute del sistema immunitario. Il Magnesio è anche coinvolto nella regolazione dei livelli di zucchero nel sangue e nella promozione della normale pressione sanguigna.

È stato altresì riportato un ruolo del Magnesio nella regolazione della plasticità sinaptica.

Nonostante il ruolo fisiologico cruciale del Magnesio, la popolazione potrebbe non assumerne quantitativi sufficienti attraverso la dieta.

Gli studi hanno dimostrato che l'assunzione alimentare di Magnesio è stata storicamente inadeguata nella popolazione statunitense (Ford et al., 2003 J. Nutr. 133, 2879-2882) o relativamente bassa per alcuni segmenti di popolazione.

Carenze di Magnesio sono associate a perdita di appetito, nausea, vomito, affaticamento, deficit di attenzione e iperattività nei bambini (ADHD),

convulsioni, ritmi cardiaci anormali, fino ad arrivare a diabete e/o malattie cardiovascolari.

L'assunzione giornaliera raccomandata di Magnesio per un adulto è generalmente compresa tra circa 15 mmol e 20 mmol (da 30 mEq a 40 mEq) e i normali livelli sierici di Magnesio variano da 0,7 mmol/L a 1,0 mmol/L. Gli alimenti ricchi di Magnesio includono legumi, cereali integrali, verdure a foglia verde, noci, caffè, cioccolato e latte. I valori nutritivi di riferimento per il Magnesio secondo il Reg. UE 1169 sono pari a 375 mg/die per un individuo adulto.

Sebbene questi alimenti siano facilmente disponibili, alcuni individui non ne consumano quantità adeguate a soddisfare il fabbisogno nutrizionale giornaliero. Inoltre, l'aumento del consumo di alimenti trasformati, che tendono a contenere meno Magnesio, può spiegare il sensibile calo del Magnesio alimentare negli Stati Uniti durante il secolo scorso. Pertanto, l'uso continuato di un integratore orale di Magnesio assorbibile e biodisponibile è fortemente raccomandato, poiché il Magnesio interviene nel processo di divisione delle cellule, contribuisce al mantenimento di denti e ossa normali. Il Magnesio contribuisce altresì alla normale sintesi proteica e funzione muscolare. Inoltre, il Magnesio contribuisce al normale funzionamento del sistema nervoso e alla normale funzione psicologica. Infine, il Magnesio contribuisce al normale metabolismo energetico e all'equilibrio elettrolitico, riducendo la stanchezza e l'affaticamento.

Gli integratori di Magnesio disponibili in commercio includono compresse o capsule di ossido di Magnesio, vari composti inorganici di Magnesio, come idrossido di Magnesio e solfato di Magnesio, composti di sali di Magnesio di acidi organici, quali sali di Magnesio dell'acido gluconico, acido citrico e acido lattico, e vari composti chelati di Magnesio.

Forma oggetto della presente invenzione una formulazione in granuli a rilascio controllato che comprende uno ione carico positivamente, preferibilmente Magnesio.

Descrizione

Il granulato secondo la presente invenzione è caratterizzato dall'essere

costituito da un nucleo rivestito da due strati, dove il nucleo comprende sali di uno ione caricato positivamente, detto primo strato di rivestimento è idrossi-propil-metilcellulosa, detto secondo strato di rivestimento comprende almeno un gelificante, almeno una fibra vegetale e cellulosa microcristallina.

Descrizione delle figure

Figura 1: scorrevolezza polveri, tempi di scorrevolezza relativi ai campioni analizzati. Per ogni campione sono riportati 3 valori (colonne bianche), con relativi margini di errore pari al 10%, e valore medio (colonne grigie).

Figura 2: valori dell'indice di compressibilità (Ic) relativo ai campioni analizzati.

Figura 3: valori dell'angolo di riposo relativo ai campioni analizzati.

Figura 4: densità al versamento (colonne grigie) e allo scuotimento (colonne bianche) dei quattro campioni di analisi.

Figura 5: distribuzioni particellari dei quattro campioni in analisi, paragonate al granulato base. Per ogni campione sono riportati nove intervalli di distribuzione particellare.

Figura 6: quantità di Magnesio ($\mu\text{g}/\text{ml}$) e rapporto percentuale rispetto allo ione iniziale) rilasciate dal granulo dopo 15 min, 30 min, 1 ora, 2 ore, 4 ore, 6 ore, 8 ore, 16 ore e 24 ore in ambiente alcalino pH=8.

Descrizione dettagliata

Il granulato secondo la presente invenzione consiste in un nucleo rivestito da due strati.

Il nucleo del granulato secondo la presente invenzione comprende almeno un sale di almeno uno ione carico positivamente. In una forma di realizzazione, detto ione è Magnesio e/o Calcio. Preferibilmente è Magnesio. In una forma preferita, detto nucleo consiste in una miscela di ossido di Magnesio e idrossido di Magnesio.

L'ossido di Magnesio è un ingrediente autorizzato in integrazione alimentare dal Reg. CE 1170/2009 - Elenco di vitamine e minerali e le loro forme che possono essere aggiunti agli alimenti, compresi gli integratori alimentari. Ogni grammo di ossido di Magnesio comprende ben 600 mg di Magnesio. L'ossido di Magnesio è fortemente igroscopico, in presenza di acqua si

trasforma nella forma idratata, nota come idrossido di Magnesio che presenta migliore biodisponibilità rispetto al precursore.

L'idrossido di Magnesio è autorizzato in integrazione alimentare dal regolamento sopra citato. È caratterizzato da una bassa solubilità e da un alto titolo in Magnesio. È in grado di richiamare acqua per gradiente osmotico.

Detto primo strato comprende idrossi-propil-metilcellulosa, preferibilmente consiste in idrossi-propil-metilcellulosa. L'idrossi-propil-metilcellulosa è autorizzata in integrazione alimentare dal Reg. CE 1333/2008 relativo agli additivi alimentari. Ha proprietà viscosizzanti ed è vantaggiosamente impiegata nei processi di granulazione ad umido, dove crea un rivestimento intorno ad un nucleo preesistente. Tale rivestimento, posto successivamente a contatto con acqua, rigonfia, creando un reticolo viscoso che rallenta la solubilizzazione e la migrazione dei costituenti del nucleo interno.

Detto secondo strato di rivestimento comprende:

- i) cellulosa, autorizzata in integrazione alimentare con il citato Reg. CE 1333/2008. Per la forte tendenza a trattenere acqua, si presta alla granulazione ad umido degli ingredienti altamente igroscopici che, se bagnati direttamente con acqua, tendono ad agglomerare, portando alla formazione di un composto instabile e disomogeneo. La presenza di cellulosa permette di bagnare lentamente e gradualmente tali sostanze, portando alla formazione di un composto stabile e omogeneo;
- ii) almeno un gelificante, selezionato nel gruppo che comprende xantano, gomma d'acacia, guar, agar, pectina, carragenina, gellano, o loro miscele. In una forma preferita, detto gelificante è gomma d'acacia, autorizzata in integrazione alimentare con il citato Reg. CE 1333/2008. La gomma d'acacia è un polisaccaride ad alto peso molecolare che presenta un'ottima solubilità e stabilità in acqua ed è una delle gomme più comunemente utilizzate in ambito alimentare. Le proprietà viscosizzanti della gomma d'acacia, unite all'elevata solubilità, la rendono ideale per i processi di trasformazione di miscele di polveri in granulati comprimibili. È in grado di formare, durante la fase di granulazione, dei ponti liquidi tra le particelle, che solidificano

successivamente in fase di asciugatura. Il semilavorato ottenuto con tale gomma, presenta maggior scorrevolezza, densità e omogeneità, caratteristiche favorenti la compressione.

iii) almeno una fibra vegetale, preferibilmente selezionata nel gruppo che comprende fibra di barbabietola, fibra di carota, fibra di mela, fibra di arancia, o loro miscele. In una forma di realizzazione, è fibra di barbabietola, autorizzata in integrazione alimentare con DM 10.08.2018. È una fibra caratterizzata da un particolare rapporto tra la frazione solubile, che rappresenta circa il 18% in peso, e quella insolubile, formata da cellulose e corrispondente a circa il 57%. La presenza di tale rapporto permette elevate proprietà viscosizzanti a contatto con l'acqua.

In una forma preferita, detto secondo strato consiste in una miscela di cellulosa, gomma d'acacia e fibra di barbabietola. In una forma di realizzazione, dette componenti sono in rapporto 1,5-1,7 cellulosa : 0,9-1,1 gomma d'acacia : 2 -2,2 fibra di barbabietola, oppure 1,5 cellulosa : 1 gomma d'acacia : 2 fibra di barbabietola.

In una forma preferita, detto granulato comprende (% p/p):

ossido di Magnesio: 18% - 24%

idrossido di Magnesio: 15% - 21%

idrossi-propil-metilcellulosa (HPMC): 10% - 16%

cellulosa microcristallina: 13% - 19%

gomma d'acacia: 7% - 13%

fibra di barbabietola: 17% - 25%

In una forma preferita, detto granulato comprende (% p/p):

ossido di Magnesio: 20% - 22%

idrossido di Magnesio: 17% - 19%

idrossi-propil-metilcellulosa (HPMC): 12% - 14%

cellulosa microcristallina: 15% - 17%

gomma d'acacia: 9% - 11%

fibra di barbabietola: 20% - 22%

In una forma preferita, detto granulato comprende (% p/p):

ossido di Magnesio: 21% - 22%

idrossido di Magnesio: 18% - 19%

idrossi-propil-metilcellulosa (HPMC): 13% -14%

cellulosa microcristallina: 15% -16%

gomma d'acacia: 10% - 11%

fibra di barbabietola: 21% - 22%

In una forma preferita, detto granulato comprende (% p/p):

ossido di Magnesio: 21,15%

idrossido di Magnesio: 18,35%

idrossi-propil-metilcellulosa (HPMC): 13,23%

cellulosa microcristallina: 15,72%

gomma d'acacia: 10,37%

fibra di barbabietola: 21,18%

Forma ulteriore oggetto della presente invenzione un metodo per l'ottenimento di detto granulato, dove detto metodo comprende:

- 1) Mettere a disposizione una miscela in polvere di Sali di ioni di Calcio e/o Magnesio e idrossi-propil-metilcellulosa (HPMC);
- 2) Trasformazione di detta miscela bagnata in granulato base;
- 3) Asciugatura e calibrazione del granulato base;
- 4) Mettere a disposizione cellulosa microcristallina, almeno un gelificante, almeno una fibra vegetale;
- 5) Bagnare detta cellulosa microcristallina;
- 6) Aggiunta a detta cellulosa microcristallina bagnata del granulato base, del gelificante e della fibra vegetale e granulazione.

Preferibilmente, detti passaggi di granulazione vengono condotti in un impastatore a quattro vie.

Preferibilmente, detto passaggio di asciugatura viene condotto in un granulatore a letto fluido, a T compresa tra 55° C e 65°C.

Preferibilmente, detto passaggio di calibrazione è ottenuto con un calibratore montante una rete con maglie da 1250 µM.

Sorprendentemente, gli autori della presente invenzione hanno dimostrato che la fibra di barbabietola, rispetto ad altre fibre vegetali, permetta l'ottenimento di un granulato con caratteristiche vantaggiose.

In particolare, il granulato ottenuto con il processo secondo la presente invenzione consente di mantenere pressoché inalterati a fine processo i quantitativi di ione apportati dai Sali.

Gli studi di rilascio hanno altresì dimostrato che il Magnesio rilasciato corrisponde pressoché al totale del Magnesio caricato, dove detta misura di rilascio comprende il Magnesio libero iniziale, il Magnesio rilasciato in ambiente acido e il Magnesio rilasciato in ambiente alcalino.

Della quantità di ione caricato in formula, inoltre, circa la metà viene liberata in ambiente gastrico e dunque risulta già accessibile dopo 1 ora dalla somministrazione. Circa il 40% del totale viene poi rilasciato gradualmente e in maniera controllata nelle successive 24 ore in ambiente alcalino.

Esempi

Esempio 1: processo di granulazione a doppio strato, selezione della fibra vegetale

Sono stati realizzati e selezionati 4 diversi granulati di polveri a base di differenti fibre vegetali, selezionate tra fibra di barbabietola, fibra di carota, fibra di arancia e fibra di mela. La tabella 1 che segue riporta la composizione quantitativa dei 4 granulati testati.

Tabella 1

| Referenza | Composizione qualitativa |
|-------------|--|
| 1 – BF5C | Ossido di Magnesio; Idrossido di Magnesio; Idrossi-propil-metilcellulosa; Gomma d'acacia; Cellulosa microcristallina; FIBRA DI BARBABIETOLA; |
| 2 – KF15C | Ossido di Magnesio; Idrossido di Magnesio; Idrossi-propil-metilcellulosa; Gomma d'acacia; Cellulosa microcristallina; FIBRA DI CAROTA; |
| 3 – CF1525C | Ossido di Magnesio; Idrossido di Magnesio; Idrossi-propil-metilcellulosa; Gomma d'acacia; Cellulosa microcristallina; FIBRA DI ARANCIA; |
| 4 - PECTINE | Ossido di Magnesio; Idrossido di Magnesio; Idrossi-propil-metilcellulosa; Gomma d'acacia; Cellulosa microcristallina; FIBRA DI MELA; |

Ogni campione ha subito un doppio processo di granulazione a umido mediante impastatore a quattro vie di tipo "Viani" e granulatore a letto fluido di tipo "Viani", al fine di creare, per ognuno di essi, un granulato avente una

struttura costituita da un nucleo rappresentato dagli ossidi di Magnesio, un primo rivestimento di idrossi-propil-metilcellulosa ed un secondo rivestimento di gomma d'acacia, fibra vegetale e cellulosa microcristallina.

Processo di granulazione N° 1

Questo primo processo di granulazione, comune ai quattro campioni di tabella 1, prevede la granulazione di ossido di Magnesio, idrossido di Magnesio e idrossi-propil-metilcellulosa.

Questo tipo di processo comprende due fasi:

1. Bagnatura della miscela di polveri e trasformazione delle stesse in granulato base;
2. Asciugatura e calibrazione del granulato base.

La prima fase di processo, consiste nella trasformazione delle polveri sfruttando un impastatore a quattro vie di tipo "Viani". Durante questa fase, le polveri vengono mescolate tra loro tramite due nastri di mescolazione montati su un albero comune controrotante e contemporaneamente bagnate con acqua tramite nebulizzazione verticale (top spray).

La seconda fase di processo consiste nella mobilitazione del granulato ottenuto per mezzo di un granulatore a letto fluido di tipo "Viani", tramite un flusso continuo di aria alla temperatura costante compresa tra i 55°C ai 65°C. Durante questa fase, le particelle granulari ottenute, scorrendo per gravità sulle superfici interne del granulatore, acquisiscono una forma semi-sferica ed omogenea.

Il granulato ottenuto viene quindi calibrato tramite calibratore di tipo "Viani", montante una rete con maglie da 1250 µm. Il passaggio forzato dei granuli attraverso la maglia rende il semilavorato omogeneo per dimensione.

Al semilavorato risultante è attribuito il nome di "granulato base" e rappresenta la componente comune di tutti e quattro i campioni in analisi.

Del "granulato base" sono stati analizzati e definiti i seguenti parametri:

1. Scorrivolezza;
2. Indice di compressibilità;
3. Angolo di riposo;
4. Densità;

5. Distribuzione granulometrica;

Tutte le analisi sopracitate sono state realizzate secondo le linee guida riportate in Farmacopea Europea X edizione.

1. Scorrevolezza

L'analisi di scorrevolezza di una polvere è stata eseguita misurando il tempo impiegato da 100 g della stessa a defluire da un imbuto che comprende una tramoggia dal diametro di 12,5 cm con inclinazione di 30°, un foro imbutito largo 1,2 cm e lungo 12,5 cm con un'inclinazione terminale, nel punto di fuoriuscita della polvere da testare, di 45°.

Per ogni campione studiato, l'analisi è stata eseguita tre volte. I tempi sono stati rilevati tramite cronografo HANHART, modello DELTA E 200. Per definizione, una polvere viene definita scorrevole se ciascuno dei 3 valori rilevati non si discosta dal valore medio per più del 10%.

2. Indice di compressibilità

L'indice di compressibilità di una polvere viene misurato a partire dai valori di volume al versamento e volume allo scuotimento della stessa.

Il metodo analitico prevede di versare 100 g di prodotto da testare in un cilindro graduato da 250 ml, per mezzo di un imbuto.

Il valore di volume al versamento è rappresentato dall'altezza inizialmente raggiunta dalla polvere all'interno del cilindro, tale altezza è definita V₀.

Per la misurazione del volume allo scuotimento (V_f), la polvere all'interno del cilindro viene sottoposta a processo di tappatura, che consiste in una serie di scuotimenti e vibrazioni consecutive suddivise in tre diversi passaggi: il primo corrisponde a 10 scuotimenti, il secondo a 500 ed il terzo a 1250.

L'analisi consiste nella valutazione dell'altezza raggiunta dalla polvere nel cilindro e dunque del volume corrispondente, ad ognuno dei tre passaggi. I valori vengono definiti V₁₀, V₅₀₀ e V₁₂₅₀.

Se la differenza tra il V₅₀₀ ed il V₁₂₅₀ risulta inferiore a 2 ml, il V₁₂₅₀ viene definito come il volume allo scuotimento della polvere, se invece la differenza tra i due è superiore ai 2 ml, l'analisi prevede di eseguire nuovamente il terzo passaggio con ulteriori 1250 scuotimenti. Il volume finale così ottenuto corrisponderà al volume allo scuotimento.

L'indice di compressibilità (Ic) corrisponde al valore in percentuale ottenuto dividendo la differenza tra il V0 e Vf, per il valore di V0.

$$Ic = [(V0 - Vf)/V0] \times 100$$

Maggiore è il valore di Ic minore è la scorrevolezza della polvere.

3. Angolo di riposo

Il calcolo dell'angolo di riposo di una polvere è ottenuto a partire dai valori di altezza e diametro del cono simmetrico che essa genera fluendo attraverso un imbuto avente le seguenti caratteristiche:

- una tramoggia dal diametro di 12,5 cm con inclinazione di 30°;
- un foro imbutito largo 1,2 cm e lungo 12,5 cm con un'inclinazione terminale, nel punto di fuoriuscita della polvere da testare, di 45°.

L'angolo di riposo è definito come il valore ottenuto dividendo l'altezza del cono simmetrico per la metà del valore del diametro.

$$\alpha = h / (0,5 \times d)$$

Maggiore è l'angolo di riposo minore è la scorrevolezza della polvere.

4. Densità

La densità di una polvere è definita dalla densità al versamento e dalla densità allo scuotimento. Entrambe le misurazioni sono ottenute dividendo 100 g della polvere da analizzare per il corrispondente valore di volume misurato.

5. Distribuzione granulometrica

L'analisi di distribuzione granulometrica è basata sulla setacciatura selettiva di un campione di polvere e sul calcolo percentuale della sua distribuzione nelle classi dimensionali corrispondenti alle maglie dei setacci.

L'analisi granulometrica per setacciatura fa uso di 8 setacci disposti in serie, ognuno dei quali trattiene la frazione di solido i cui granuli hanno dimensioni maggiori dei fori del setaccio.

Le dimensioni delle maglie dei setacci utilizzati sono, in ordine decrescente: 710 µm, 500 µm, 355 µm, 250 µm, 180 µm, 125 µm, 90 µm e 63 µm.

La colonna di setacci poggia su uno scuotitore meccanico, chiamato vibrovaglio. Durante l'analisi, il vibrovaglio agita la colonna per un tempo di 15 minuti, passato il quale si procede alla pesatura delle frazioni di solido

trattenute da ciascun piatto.

Il peso di ciascuna frazione solida viene quindi rapportato al peso del solido totale, per ottenere la percentuale (in massa) di solido trattenuto in ciascun piatto.

Le tabelle 2 e 3 che seguono mostra i risultati ottenuti. I numeri nella prima riga fanno riferimento ai parametri misurati come sopra specificato.

Tabella 2

| | 1. | | | | 2. | 3. | 4. versam. (g/ml) | 4. scuotim. (g/ml) | |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-------------------|--------------------|--------|----------------------|--------------------------|------|
| | T1 (s) | T2 (s) | T3 (s) | T Medio (s) | RISULTATO | | | | |
| Granulato base | 2,45 | 2,00 | 2,20 | 2,22 | POLVERE SCORREVOLE | 13,21% | 40,00° | 0,94 | 1,09 |

Tabella 3

| | 5. Distribuzione granulometrica | | | | | | | | |
|----------------|---------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|------------------|---------------|
| | > 710 micron % | 710 - 500 micron % | 500 - 355 micron % | 355 - 250 micron % | 250 - 180 micron % | 180 - 125 micron % | 125 - 90 micron % | 90 - 63 micron % | < 63 micron % |
| Granulato base | 19,49 % | 13,92 % | 12,02 % | 12,55 % | 10,66 % | 12,40 % | 8,11 % | 7,38 % | 3,47 % |

Come si evince dalla tabella 3, circa l'80% della polvere analizzata presenta una distribuzione granulometrica compresa tra i 125 e i 710 micron.

Processo di granulazione N° 2

Il secondo processo di granulazione parte dal granulato base, ottenuto dal processo di granulazione N° 1, che viene rilavorato in presenza della fibra vegetale, della gomma d'acacia e della cellulosa microcristallina, componenti specificati in Tabella 1.

Questo secondo processo si compone delle stesse due macro-fasi precedenti, con una sostanziale differenza nella lavorazione delle polveri durante la fase di bagnatura della miscela.

Infatti, anziché spruzzare direttamente acqua sulle polveri e quindi avere una bagnatura diretta delle stesse, si sfrutta la capacità della cellulosa microcristallina di catturare acqua e rilasciarla lentamente se sottoposta a

forze di spinta e di taglio, permettendo una bagnatura indiretta, che evita l'agglomerazione incontrollata del composto in lavorazione.

La fase di bagnatura delle polveri in questo secondo processo di granulazione ad umido risulta suddivisa in due sottofasi.

a. In una prima sottofase, utilizzando un impastatore a quattro vie di tipo "Viani", la quantità d'acqua calcolata per la realizzazione dell'impasto viene spruzzata esclusivamente sulla cellulosa microcristallina.

b. Nella seconda, alla cellulosa microcristallina arricchita in acqua vengono aggiunti il granulato base, la gomma di acacia e la fibra vegetale. Le forze di spinta e di taglio dell'impastatore a quattro vie inducono la cellulosa a rilasciare gradualmente acqua sulle polveri restanti, favorendo una bagnatura più omogenea e inducendo la formazione di nuovi ponti liquidi viscosi tra le stesse da parte della gomma di acacia e della fibra vegetale, che andranno a creare un secondo rivestimento attorno al granulato preformato.

Sono stati così realizzati i 4 campioni e sono state analizzate e confrontate le loro proprietà in termini dei 4 parametri che seguono:

1. Scorrivolezza;
2. Indice di compressibilità;
3. Angolo di riposo;
4. Densità;

I quattro valori risultano predittivi del comportamento del granulato in caso di ulteriore lavorazione, come quella di compressione.

Più risultano alti i parametri di densità e scorrivolezza di una polvere e più bassi sono i valori dell'angolo di riposo e dell'indice di compressibilità, più una polvere si presta ad essere trasformata in compressa. I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 4.

Tabella 4

| | 1. | | | | | 2. | 3. | 4. versam. (g/ml) | 4. scuotim. (g/ml) |
|--|----------|----------|----------|--------------|-----------|----|----|-------------------------|--------------------------|
| | 1 (s) | 2 (s) | 3 (s) | Medio (s) | RISULTATO | | | | |
| | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | |
|---------|------|------|------|------|------------------------------|--------|--------|------|------|
| BF5C | 2,20 | 2,28 | 2,40 | 2,29 | POLVERE SCORREVOLE | 14,29% | 41,67° | 0,71 | 0,83 |
| KF15C | 4,98 | 3,61 | 3,48 | 4,02 | POLVERE NON MOLTO SCORREVOLE | 18,75% | 64,35° | 0,63 | 0,77 |
| CF1525C | 2,17 | 1,97 | 2,20 | 2,11 | POLVERE SCORREVOLE | 22,22% | 43,33° | 0,79 | 1,02 |
| PECTINE | 3,08 | 3,50 | 3,70 | 3,43 | POLVERE SCORREVOLE | 14,29% | 49,57° | 0,71 | 0,83 |

I campioni BF5C, CF 1525 C e PECTINE possono definirsi polveri scorrevoli, in quanto i tempi di analisi rilevati non discostano dai relativi valori medi per un valore superiore al margine di errore, come evidenziato dal grafico di figura 1.

Secondo la scala di scorrevolezza relativa agli indici di compressibilità riportata in Farmacopea Europea X, i campioni BF5C e PECTINE presentano una scorrevolezza definita “buona”, mentre i campioni CF 1525 C e KF15C presentano una scorrevolezza “accettabile”, come mostrato dal grafico di figura 2.

Quando la scorrevolezza è data dall’angolo di riposo, secondo la scala di scorrevolezza relativa all’angolo di riposo riportata in Farmacopea Europea X, i campioni BF5C e CF 1525 C presentano una scorrevolezza definita “accettabile”, il campione PECTINE presenta una scorrevolezza “bassa”, mentre il campione KF15C presenta una scorrevolezza “molto bassa”, come evidenziato in figura 3.

In base ai valori di densità rilevati e mostrati in figura 4, le polveri che si prestano maggiormente ad essere trasformate in compresse sono i campioni CF 1525 C, BF5C e PECTINE.

I dati ottenuti mostrano che:

- i semilavorati che presentano un più alto grado di scorrevolezza sono, in ordine decrescente, i campioni BF5C e CF 1525 C;
- i semilavorati che presentano un più basso indice di compressibilità sono, in ordine decrescente, i campioni BF5C e PECTINE;
- i semilavorati che presentano un più basso valore relativo all’angolo di riposo sono, in ordine decrescente, i campioni BF5C e CF 1525 C;

- i semilavorati che presentano un più alto grado di densità sono, in ordine decrescente, i campioni CF 1525 C e BF5C al pari del campione PECTINE;

In parallelo alle analisi sopracitate, è stata valutata anche la distribuzione particellare di ogni campione. Analizzando infatti i valori di distribuzione granulometrica di ogni singolo campione e confrontandolo con quello del granulato base, è possibile verificare se effettivamente i semilavorati finali ottenuti corrispondano ad un unico granulato, caratterizzato da un doppio rivestimento.

Una distribuzione granulometrica orientata ad un'alta percentuale di particelle di dimensione maggiore, è indice di un alto grado di riuscita del secondo processo di granulazione e della effettiva formazione di un doppio rivestimento attorno al nucleo di sali di Magnesio, mentre, una distribuzione granulometrica orientata ad un'alta percentuale di particelle di dimensione inferiore, simile o paragonabile a quella del granulato base, è indice di una granulazione parallela e non di un doppio rivestimento del granulato di partenza. I risultati, mostrati nella tabella 5 che segue, indicano che, come per il granulato base, i campioni KF15C e PECTINE presentano circa l'80% della polvere distribuita tra i 125 e i 710 micron. I campioni BF5C e CF 1525 C presentano invece rispettivamente circa l'88% e l'86% della polvere distribuita tra i 125 e i 710 micron. In particolare, il campione BF5C presenta il 67% di polvere compresa tra i 250 e i 710 micron, mentre il campione CF 1525 C, circa il 59%.

Tabella 5

| | DISTRIBUZIONE GRANULOMETRICA | | | | | | | | |
|----------------|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|------------------|---------------|
| | > 710 micron % | 710 - 500 micron % | 500 - 355 micron % | 355 - 250 micron % | 250 - 180 micron % | 180 - 125 micron % | 125 - 90 micron % | 90 - 63 micron % | < 63 micron % |
| GRANULATO BASE | 19,49% | 13,92% | 12,02% | 12,55% | 10,66% | 12,40% | 8,11% | 7,38% | 3,47% |
| BF5C | 20,00% | 15,20% | 16,81% | 14,98% | 11,53% | 10,06% | 4,87% | 3,98% | 2,57% |
| KF15C | 14,78% | 16,44% | 14,92% | 10,73% | 12,69% | 12,02% | 7,66% | 8,91% | 1,85% |
| CF 1525 C | 18,02% | 16,80% | 13,02% | 11,13% | 11,65% | 15,14% | 7,82% | 4,82% | 1,60% |

| | | | | | | | | | |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|
| PECTINE | 14,53% | 15,85% | 14,23% | 13,95% | 12,77% | 10,20% | 8,11% | 6,36% | 4,00% |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|

L'osservazione è evidente dalla figura 5, dove il grafico permette di paragonare i picchi dei diversi campioni a quelli del granulato base. Maggiore è l'altezza dei picchi compresi tra i 125 µm e i 710 µm, e minore è quella dei picchi compresi tra i 125 µm e i 0 µm, più alto è il grado di riuscita del secondo processo di granulazione.

Il campione che presenta la distribuzione granulometrica tendente ad avere la più alta percentuale di particelle di dimensioni maggiori è il campione BF5C.

L'analisi dei parametri considerati, ha permesso di selezionare la fibra di barbabietola come la preferita per lo scopo.

Esempio 2: studio di carico

Il campione BF5C ottenuto come da esempio 1 è stato sottoposto a studio di carico. Lo scopo dell'analisi è quello di verificare che il doppio processo di granulazione ad umido non compromettesse la quantità di Magnesio presente nel core del granulo.

Il titolo di Magnesio è stato determinato mediante processo analitico EPA 3051A 2007 ed EPA 6010D 2018.

Brevemente, un'aliquota di 0,5 g del granulato BF5C è stata digerita in una soluzione di 8 ml di acido nitrico concentrato al 65% (HNO_3) e 2 ml di acido cloridrico concentrato al 36% (HCl), alla temperatura di 175 °C per un tempo di 5 minuti.

Dopo la digestione, il campione è stato filtrato tramite un filtro caratterizzato da una porosità di 0,45 µm e portato al volume di 100 ml con acqua deionizzata.

La soluzione ottenuta è stata quindi analizzata mediante strumentazione spettrometrica ad emissione ottica (ICP-OES), in grado di rilevare l'elemento. L'incertezza estesa riportata nel rapporto di prova è calcolata con un fattore di copertura $k = 2$, corrispondente ad un livello di confidenza di circa il 95%.

Il titolo di Magnesio misurato corrisponde a 20,9%, coerente con quello ipotizzato teorico del 20,4%.

Esempio 3: studio di rilascio

Dopo aver confermato che il titolo di Magnesio presente nel campione BF5C corrisponde a quello ipotizzato in base alla quantità di ingredienti inseriti ed al relativo titolo, il campione è stato sottoposto a valutazioni per verificarne la performance di rilascio controllato e prolungato nel tempo di ioni Magnesio.

Lo studio prevede due fasi:

1. valutare la quantità di Magnesio in forma libera, presente cioè sulla superficie del granulo e non al suo interno;
2. valutare la quantità di Magnesio che viene rilasciato nel tempo, sia in ambiente acido che in quello alcalino.

Per avere conferma della quantità di Magnesio effettivamente incapsulata all'interno del doppio rivestimento, sono state saggiate soluzioni di campione BF5C in acqua, alla concentrazione di 1 mg/ml e 0,1 mg/ml.

La tecnica di analisi ha previsto l'utilizzo di un saggio colorimetrico "Magnesium Assay Kit" (Sigma Aldrich).

Tale procedura si basa sulla reazione di fosforilazione Magnesio dipendente, catalizzata dall'enzima glicerolo chinasi, i cui reagenti sono glicerolo e ATP (adenosin-trifosfato) ed i cui prodotti sono glicerolo-3-fosfato e ADP (adenosin-difosfato).

Incubando i prodotti di reazione con una soluzione a base di colorante calmagite, si induce la formazione di un complesso tra il colorante e il glicerolo-3-fosfato, la cui intensità di colore è direttamente proporzionale alla concentrazione di Magnesio libero del campione.

L'assorbanza del campione viene letta a lunghezza d'onda di 450 nm mediante lettore colorimetrico e la relativa quantità di ione libero, è calcolata mediante una retta di taratura costruita a concentrazioni note e crescenti di Magnesio.

Durante l'intero processo di analisi, solo il Magnesio inizialmente libero viene rilevato, in quanto la frazione racchiusa nel granulo non risulta disponibile per la reazione di fosforilazione enzimatica.

Per lo studio del rilascio di Magnesio, è stata invece saggia una soluzione contenente 100 mg di campione BF5C, diluita in 20 ml di acqua.

Lo studio di rilascio ha previsto due condizioni sperimentali:

- soluzione mimante l'ambiente gastrico a pH=2;
- soluzione mimante l'ambiente alcalino a pH=8;

Per lo studio di rilascio in ambiente acido, alla soluzione di 100 mg di campione BF5C e 20 ml di acqua, sono stati aggiunti 18 ml di HCl concentrato. Il campione di analisi è stato incubato a 37°C su un agitatore orbitale ad una velocità di 300 rpm.

La concentrazione finale di ione Magnesio in soluzione è pari a 0,536 mg/ml.

Per lo studio di rilascio in ambiente alcalino, alla soluzione di 100 mg di campione BF5C e 20 ml di acqua, sono stati aggiunti 12 ml di pancreatina, 6 ml di acidi biliari e idrossido di sodio (NaOH) 1N, sino a raggiungimento del pH desiderato. Anche in questo caso, il campione di analisi è stato incubato a 37 °C su un agitatore orbitale ad una velocità di 300 rpm.

Anche per questo studio, la concentrazione finale di ione Magnesio in soluzione è pari a 0,536 mg/ml.

Ipotizzando un tempo limitato di permanenza del prodotto nello stomaco, la soluzione acida è stata testata a t0 e t1ora, mentre quella alcalina è stata saggiaata a: 15 minuti, 30 minuti, 1 ora, 2 ore, 4 ore, 6 ore, 8 ore, 16 ore e 24 ore.

Per le rilevazioni delle quantità di ione rilasciato ai vari intervalli di tempo, è stato utilizzato il medesimo saggio colorimetrico "Magnesium Assay Kit".

Risultati

Quantità di Magnesio nello studio di carico massimo (Magnesio libero).

È possibile che durante il processo di granulazione non tutto il Magnesio si collochi all'interno dei due strati del granulato, ma che una parte migri sulla superficie rendendo di fatto lo ione immediatamente disponibile in soluzione. In entrambi i test condotti, entrambe le soluzioni mostrano una quantità di Magnesio libera inferiore al 10% (tabella 6).

Tabella 6

| | MAGNESIO ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | DEVIAZIONE STANDARD | % MAGNESIO LIBERO INIZIALE | % MAGNESIO INCAPSULATO |
|------------------|--------------------------------------|---------------------|----------------------------|------------------------|
| BF5C; C: 1 mg/ml | 19,6 | 2,0 | 9,6% | 90,4% |

| | | | | |
|-----------------------|-----|-----|------|-------|
| BF5C; C: 0,1 mg/ml | 1,7 | 0,1 | 8,2% | 91,8% |
|-----------------------|-----|-----|------|-------|

Per il rilascio in ambiente gastrico, la quantità di ione Magnesio libero riportato ai diversi intervalli di tempo è sottratta del valore di ione libero rilevato nella precedente fase di studio. Per ciascuna condizione sperimentale analizzata è indicata la percentuale di Magnesio rilasciato rispetto al carico di ione iniziale. Si osserva il rilascio del 46% del Magnesio contenuto nel granulo (tabella 7).

Tabella 7

| | MAGNESIO RILASCIATO IN AMBIENTE ACIDO ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | DEVIAZIONE STANDARD | % MAGNESIO RILASCIATO IN AMBIENTE ACIDO |
|------------|---|---------------------|---|
| T1 (1 ora) | 280,2 | 2,0 | 46,86% |

Per il rilascio in ambiente alcalino, viene saggiato il rilascio di Magnesio da granulato dopo 15 min, 30 min, 1 ora, 2 ore, 4 ore, 6 ore, 8 ore, 16 ore e 24 ore in ambiente alcalino pH=8.

La quantità di ione Magnesio libero riportato ai diversi intervalli di tempo è sottratta del valore di ione libero rilevato nella precedente fase di studio. Per ciascuna condizione sperimentale analizzata è indicata in tabella 8 la percentuale di Magnesio rilasciato rispetto al carico di ione iniziale. I dati mostrano che dopo 24 ore circa il 39% di ione è passato dal granulo alla soluzione alcalina.

Tabella 8

| | MAGNESIO RILASCIATO IN AMBIENTE ALCALINO ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | DEVIAZIONE STANDARD | % MAGNESIO RILASCIATO IN AMBIENTE ALCALINO |
|----------------|--|---------------------|--|
| T1 (15 minuti) | 30,00 | 0,4 | 5,60% |
| T2 (30 minuti) | 36,80 | 0,9 | 6,90% |
| T3 (1 ora) | 43,40 | 1,0 | 8,10% |
| T4 (2 ore) | 54,30 | 0,6 | 10,10% |
| T5 (4 ore) | 62,00 | 0,6 | 11,60% |
| T6 (6 ore) | 74,00 | 1,0 | 13,80% |
| T7 (8 ore) | 92,40 | 3,2 | 17,20% |
| T8 (16 ore) | 150,61 | 1,6 | 28,04% |
| T9 (24 ore) | 210,64 | 2,1 | 39,21% |

La figura 6 mostra le quantità di Magnesio rilasciate dal granulo dopo 15 min, 30 min, 1 ora, 2 ore, 4 ore, 6 ore, 8 ore, 16 ore e 24 ore in ambiente alcalino pH=8. I valori di Magnesio liberato sono espressi in $\mu\text{g}/\text{ml}$ e in rapporto percentuale rispetto allo ione iniziale. I valori riscontrati indicano un rilascio costante e graduale nel tempo, raggiungendo, dopo 24 ore, un valore di rilascio superiore al 39% rispetto alla quantità di ione caricato.

RIVENDICAZIONI

1. Un granulato adatto per l'uso come integratore alimentare, che comprende granuli che consistono in un nucleo ed un doppio strato di rivestimento, dove detto nucleo comprende almeno un sale di uno ione carico positivamente, detto primo strato di rivestimento comprende Idrossi-propil-metilcellulosa (HPMC) e detto secondo strato comprende cellulosa, almeno un gelificante, almeno una fibra vegetale.
2. Il granulato secondo la rivendicazione 1, dove detti ioni sono Calcio e/o Magnesio, preferibilmente Magnesio.
3. Il granulato secondo la rivendicazione 1 o 2, dove detto nucleo comprende ossido di Magnesio e idrossido di Magnesio.
4. Il granulato secondo una delle rivendicazioni da 1 a 3, dove detto almeno un gelificante è selezionato nel gruppo che comprende xantano, gomma d'acacia, guar, agar, pectina, carragenina, gellano, o loro miscele.
5. Il granulato secondo una delle rivendicazioni da 1 a 4, dove detta almeno una fibra vegetale è selezionata nel gruppo che comprende fibra di barbabietola, fibra di carota, fibra di mela, fibra di arancia, o loro miscele.
6. Il granulato secondo una delle rivendicazioni da 1 a 5, dove detto nucleo comprende ossido di Magnesio e idrossido di Magnesio, detto primo strato consiste in HPMC, detto secondo strato consiste in gomma d'acacia, cellulosa, fibra di barbabietola.
7. Un metodo per l'ottenimento di un granulato secondo una delle rivendicazioni da 1 a 6, dove detto metodo comprende:
 - Mettere a disposizione una miscela in polvere di Sali di ioni di calcio e/o Magnesio e idrossi-propil-metilcellulosa (HPMC);
 - Trasformazione di detta miscela bagnata in granulato base;
 - Asciugatura e calibrazione del granulato base;

- Mettere a disposizione cellulosa microcristallina, almeno un gelificante, almeno una fibra vegetale;
 - Bagnare detta cellulosa microcristallina;
 - Aggiunta a detta cellulosa microcristallina bagnata del granulato base, del gelificante e della fibra vegetale e granulazione.
8. Il metodo secondo la rivendicazione 7, dove detto passaggio di asciugatura viene condotto in un granulatore a letto fluido, a T compresa tra 55° C e 65°C.

TAV. I

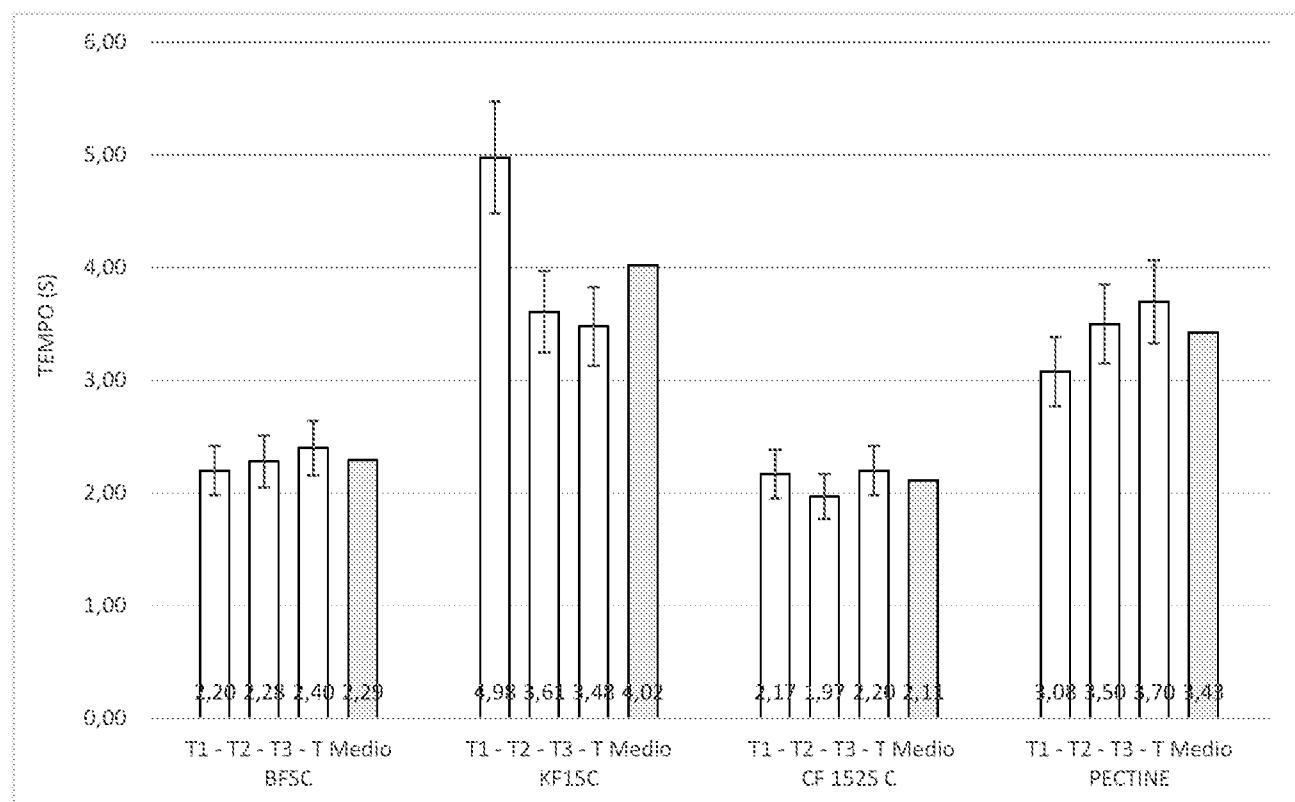


Figura 1

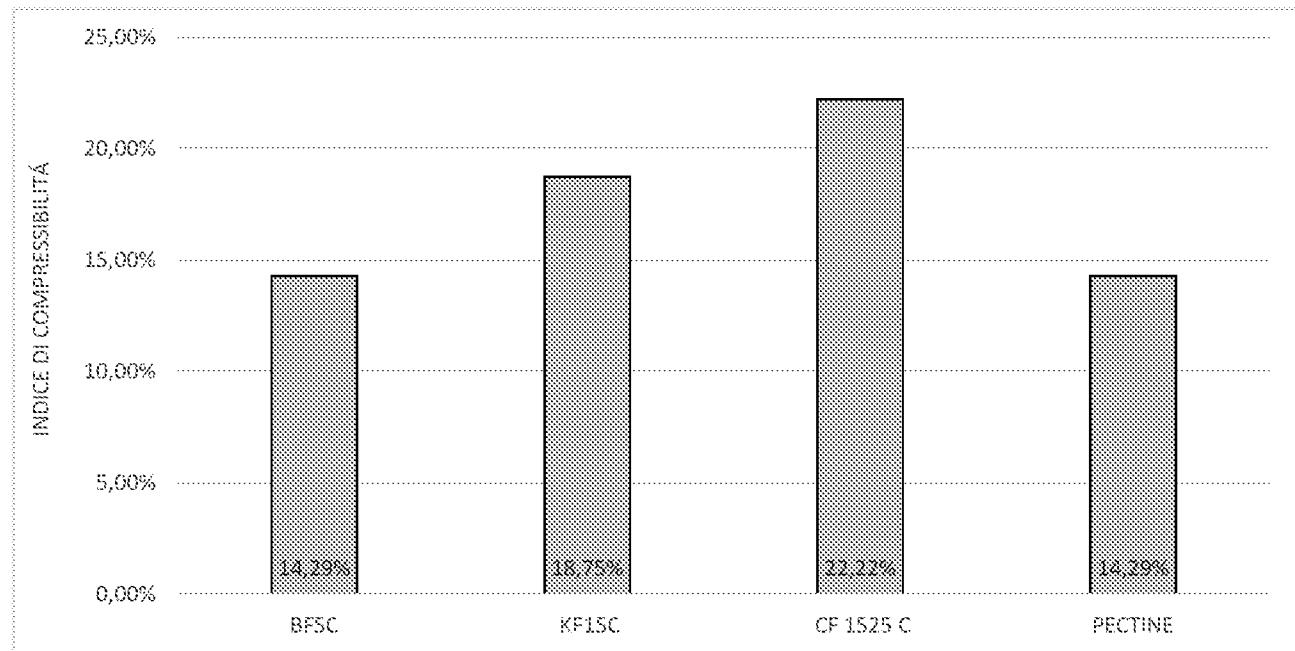


Figura 2

D.ssa Dorotea RIGAMONTI

TAV. II

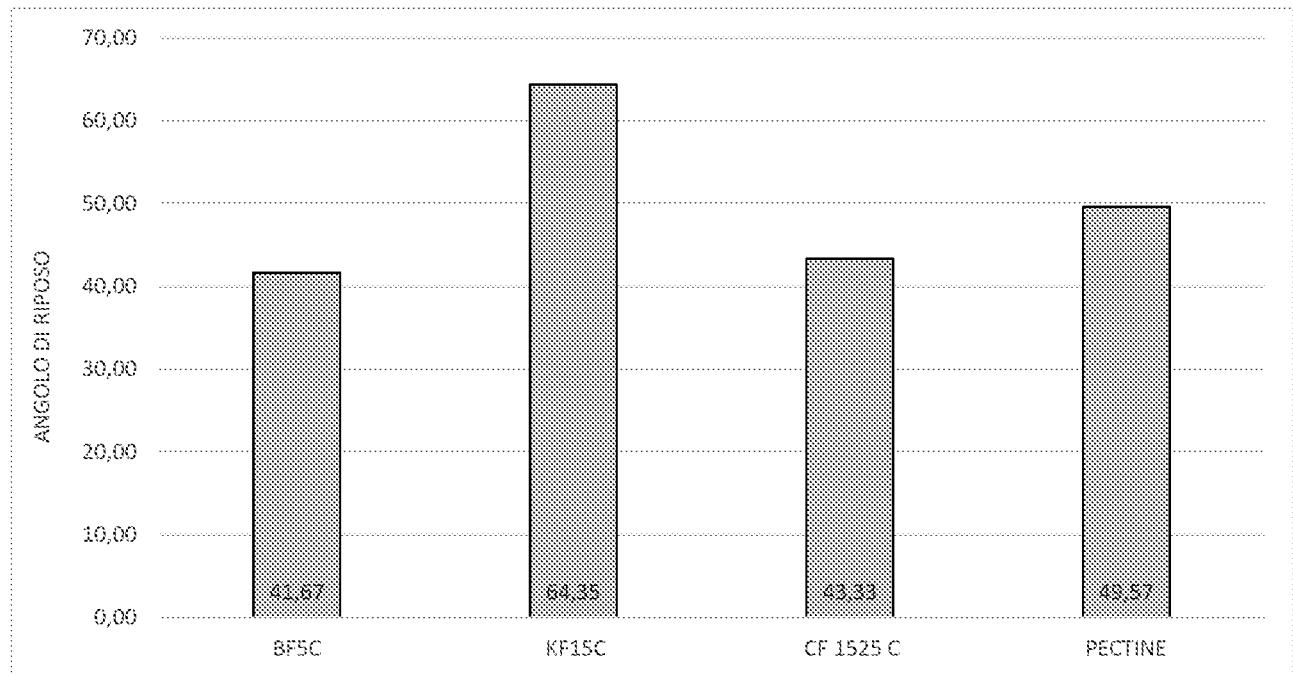


Figura 3

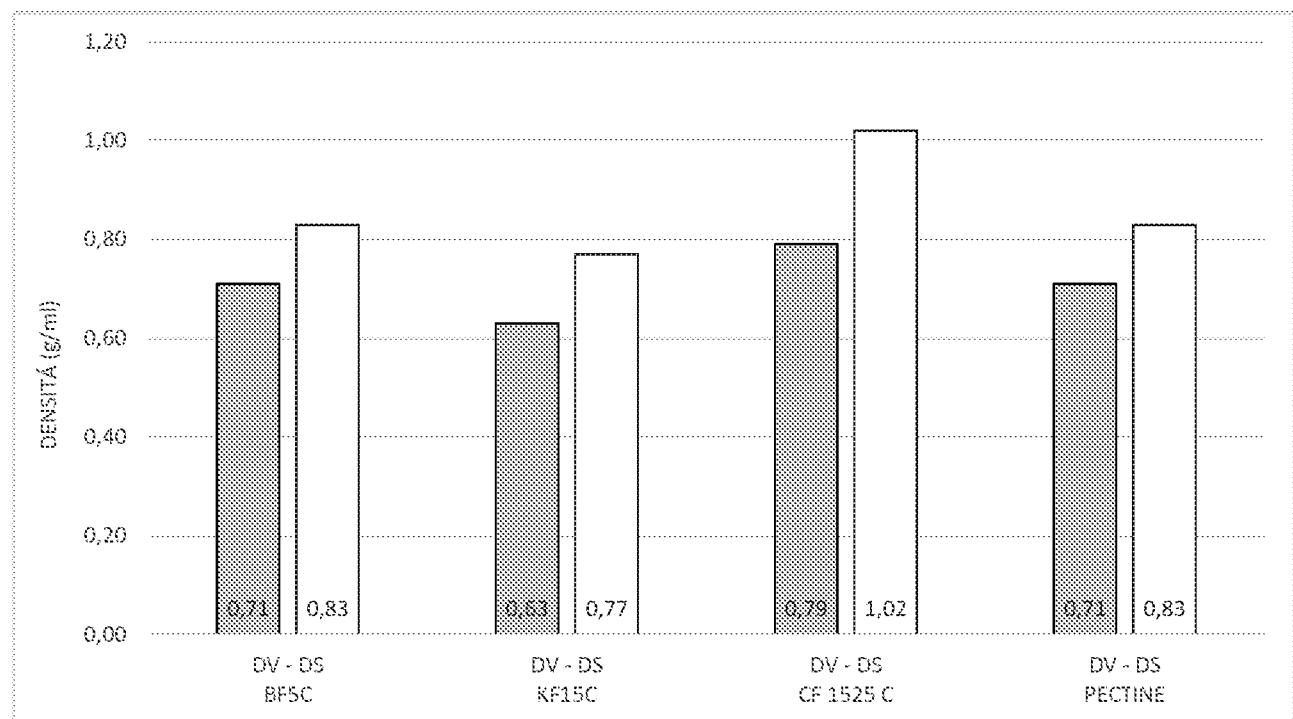


Figura 4

D.ssa Dorotea RIGAMONTI

TAV. III

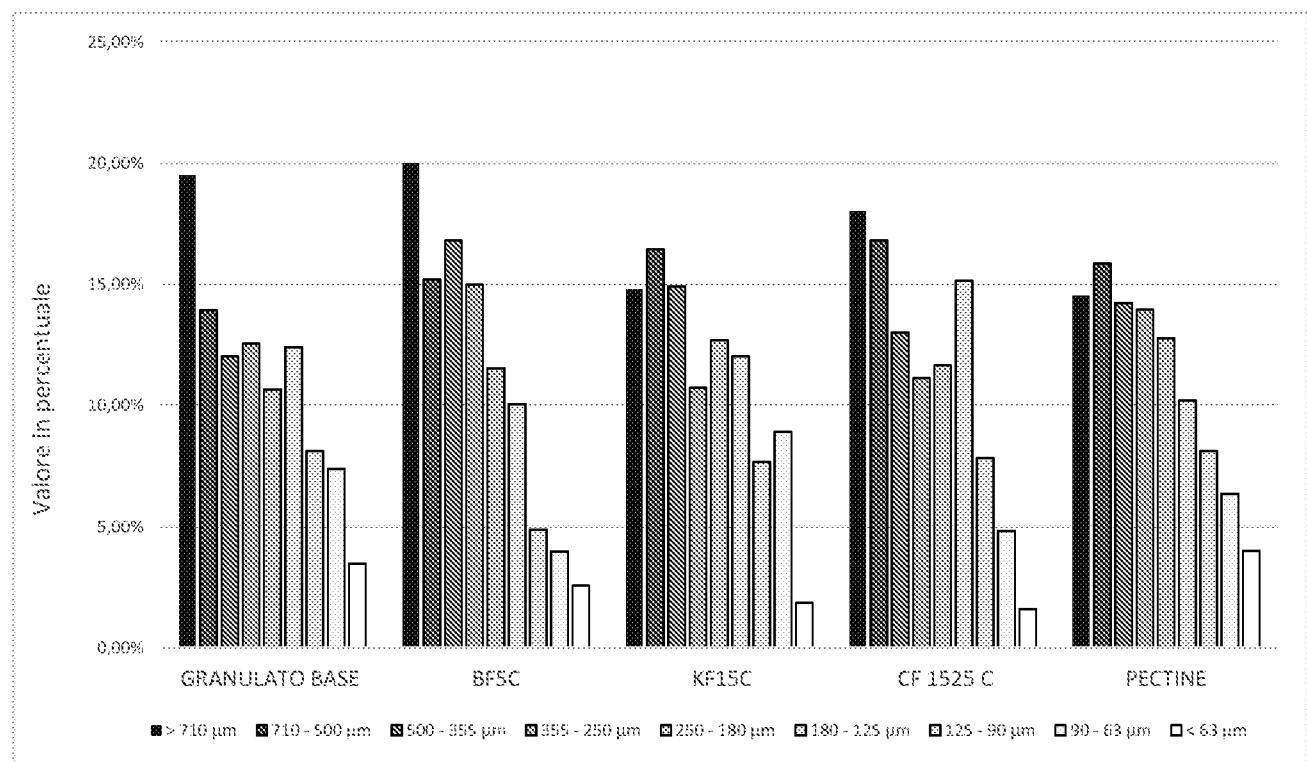


Figura 5

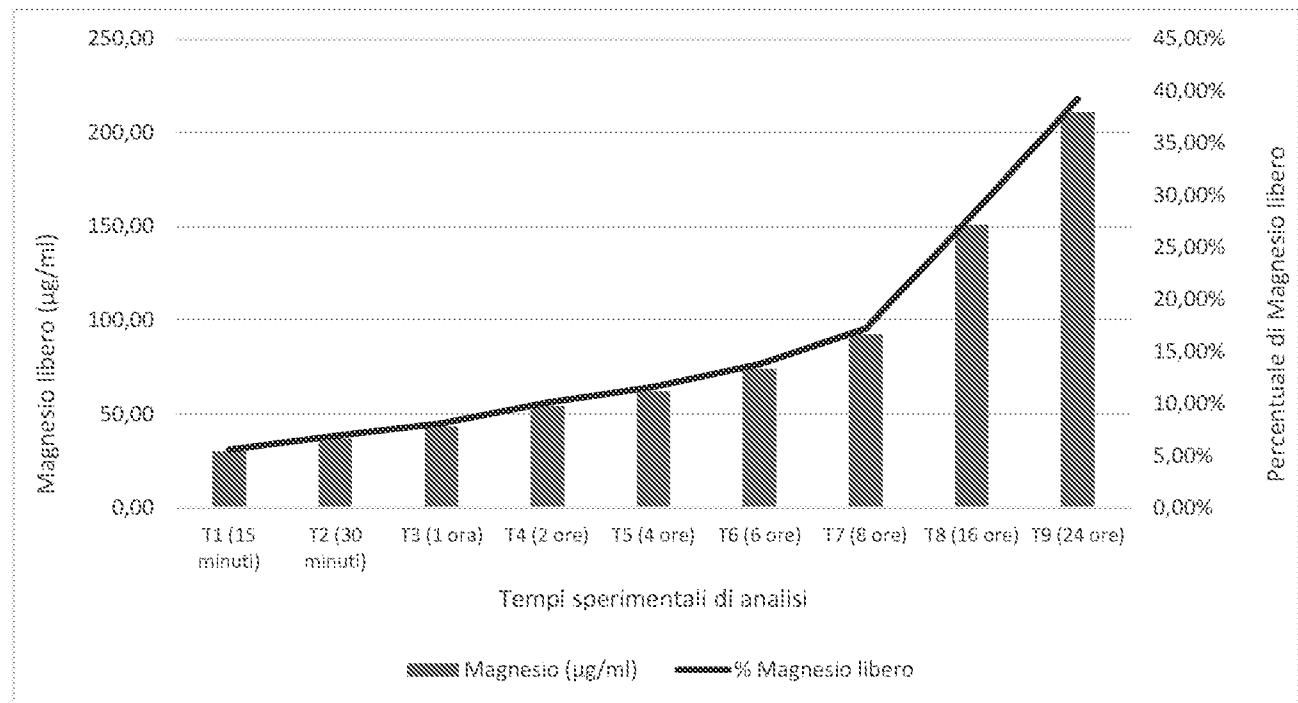


Figura 6

D.ssa Dorotea RIGAMONTI