



**MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO**  
**DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE**  
**UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI**

<b>DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO</b>	<b>102018000002841</b>
<b>Data Deposito</b>	<b>20/02/2018</b>
<b>Data Pubblicazione</b>	<b>20/08/2019</b>

Classifiche IPC

Titolo

**FILM BIOPOLIMERICO PER IL RILASCIO LOCALIZZATO DI PRINCIPI ATTIVI**

**DESCRIZIONE**

Annessa a domanda di brevetto per INVENZIONE INDUSTRIALE avente per titolo

**“FILM BIOPOLIMERICO PER IL RILASCIO LOCALIZZATO  
DI PRINCIPI ATTIVI”**

A nome: Tecnologica SRL

Via E. Fermi snc,  
88900 Crotone (KR) ITALIA

Mandatari: D.ssa Elena ROSSETTI, Albo iscr. nr.1124B, Ing. Dario ALDE, Albo iscr. nr.1338 B, Ing. Marco BELLASIO, Albo iscr. nr.1088 B, Ing. Giancarlo BELLONI, Albo iscr. nr.1113B, D.ssa Cristina BIGGI, Albo iscr. nr.1239 B, D.ssa Michela ERRICO, Albo iscr. nr.1520 B, Ing. Simona INCHINGALO, Albo iscr. nr.1341 B, Ing. Giancarlo PENZA, Albo iscr. nr.1335 B, Ing. Ugo ROSSI, Albo iscr. nr.1209B, Elio Fabrizio TANSINI, Albo iscr. nr.697 BM, Ing. Luigi TARABBIA, Albo iscr. nr.1005 BM, Ing. Lucia VITTORANGELI, Albo iscr. nr.983 BM, Ing. Umberto ZERMANI, Albo iscr. nr.1518 B

\*\*\*\*\*

**CAMPO DELL'INVENZIONE**

La presente invenzione ha per oggetto un metodo per ottenere un film biopolimerico per uso medico per il rilascio localizzato di principi attivi.

**STATO DELL'ARTE**

- 5 Nel campo della chirurgia orale sono frequenti gli interventi che richiedono allo stesso tempo l'eliminazione di infezioni batteriche nel sito chirurgico e la stimolazione rigenerativa del tessuto danneggiato attorno alla ferita. Un caso tipico è il trattamento dell'alveolo post estrattivo. Il sito chirurgico nel 3-5% dei casi mostra una complicazione chiamata alveolite post-
- 10 estrattiva che viene tradizionalmente trattata utilizzando una profilassi antibiotica sistemica. Inoltre, nel caso di ascessi dentali resistenti alla terapia antibiotica sistemica, un trattamento comune è la chirurgia seguita

dal drenaggio del pus e rigenerazione delle lesioni osteolitiche post-ascenso.

Per limitare il ricorso a terapie antibiotiche sistemiche, spesso causa dell'insorgenza di antibiotico resistenze nel paziente, sono note nel settore farmaceutico diverse composizioni, ad esempio sotto forma di gel, per il  
5 rilascio localizzato di principi attivi.

Ancora, negli interventi di implantologia dentale la perimplantite rappresenta una complicanza per il 15% degli impianti dentali impiantati ogni anno in tutto il mondo, il che significa che ne è afflitto circa il 10% dei  
10 pazienti sottoposti ad implantologia dentale. Gli impianti dentali sono oggi spesso utilizzati per ripristinare denti mancanti mediante l'utilizzo di una vite inserita nell'osso (protesi radicale), su cui si posiziona la corona protesica. La perimplantite è una infiammazione dei tessuti peri-implantari ad eziologia batterica, spesso favorita da carichi eccessivi e dalla  
15 presenza di una deiscenza delle spire dell'impianto. Questa condizione clinica porta all'insuccesso implantare se non viene trattata correttamente. Attualmente per curare le perimplantiti si applica localmente un gel antibiotico contenente farmaci particolarmente attivi contro i batteri anaerobici. Questo trattamento è propedeutico ad una seconda fase, a  
20 seguito della decontaminazione del sito, che mira a promuovere la rigenerazione del tessuto marginale osseo intorno all'impianto.

Tuttavia, le composizioni per il rilascio localizzato di principi attivi attualmente disponibili sul mercato non permettono un accurato dosaggio del principio attivo, poiché la quantità di prodotto applicata è  
25 estremamente variabile. Inoltre, talune composizioni possono ostruire la corretta visuale del sito chirurgico, rendendo difficoltoso il posizionamento della composizione stessa.

Sono altresì noti nell'arte dispositivi per il rilascio localizzato di principi attivi, quali ad esempio cerotti medicati, etc.

30 Seppur flessibili ed adatti alla cura delle ferite superficiali, tali dispositivi si rivelano non del tutto soddisfacenti per il rilascio localizzato di principi attivi

in corrispondenza di tessuti dalla morfologia complessa, come ad esempio le ferite chirurgiche, in particolare del cavo orale.

In questo contesto, il presente trovato si pone quindi come compito precipuo quello di fornire un nuovo prodotto per il rilascio localizzato di principi attivi, che trovi impiego in campo medico, in particolare nel  
5 trattamento delle ferite, più specificatamente delle ferite la cui morfologia risulta particolarmente complessa, quali le ferite, anche chirurgiche, del cavo orale.

Nell'ambito di questo compito, uno scopo del trovato è quello di fornire un  
10 prodotto che consenta di applicare localmente un preciso dosaggio dei principi attivi, anche in quantità elevate.

Il presente trovato ha come scopo anche quello di fornire un metodo per ottenere detto prodotto per il rilascio localizzato di principi attivi, la cui realizzazione sia semplice, rapida e richieda costi contenuti.

#### 15 SOMMARIO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione riguarda un metodo per realizzare un film biopolimerico comprendente:

(i) predisporre una composizione acquosa (A) comprendente sieroalbumina, preferibilmente sieroalbumina bovina, e una composizione  
20 acquosa (B) comprendente glutaraldeide, in cui almeno una tra le composizioni acquose (A) e (B) comprende microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti almeno un principio attivo;

(ii) spruzzare e miscelare la composizione acquosa (A) e la composizione  
25 acquosa (B) in rapporto volumetrico compreso tra circa 1:2 e circa 2:1, preferibilmente in rapporto circa 1:1.

La presente invenzione ha per oggetto anche un film biopolimerico ottenuto dal metodo secondo l'invenzione, preferibilmente per uso medico, in particolare per il rilascio localizzato di principi attivi.

Inoltre, la presente invenzione si riferisce ad un kit per la realizzazione di  
30 un film biopolimerico comprendente:

- un primo contenitore comprendente un volume  $V_A$  di composizione

acquosa (A) come sopra descritta; e

- un secondo contenitore comprendente un volume  $V_B$  di composizione acquosa (B) come sopra descritta,

in cui almeno una tra le composizioni acquose (A) e (B) comprende  
5 microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti almeno un principio attivo e

in cui detto primo e secondo contenitore sono configurati per spruzzare, preferibilmente simultaneamente, detto volume  $V_A$  e  $V_B$ , o una frazione di detto volume  $V_A$  e  $V_B$ , sulla medesima area superficiale, in rapporto  $V_A:V_B$

10 compreso tra circa 1:2 e circa 2:1, preferibilmente in rapporto circa 1:1.

#### DESCRIZIONE DELLE FIGURE

La Figura 1 riporta la distribuzione delle dimensioni delle particelle di acido poli(lattico-co-glicolico) tal quale e di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti 1%, 5% e 10% di amoxicillina sodio utilizzate nell'esempio

15 1.

La Figura 2 riporta la distribuzione delle dimensioni delle particelle di acido poli(lattico-co-glicolico) tal quale e di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti 1%, 5% e 10% di amoxicillina triidrato utilizzate nell'esempio  
2.

#### 20 DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Nel contesto della presente invenzione, il termine "ferita" indica qualunque tipo di lesione dei tessuti, sia interni che esterni, comprese le lesioni chirurgiche, le lesioni dovute a traumi o a condizioni degenerative del tessuto stesso.

25 Nel contesto della presente invenzione, il termine "biopolimerico" si riferisce ad un film comprendente macromolecole, incluse le proteine, prodotte da organismi viventi.

Nel contesto della presente invenzione, il termine "principio attivo" indica una sostanza o una associazione di sostanze che può essere utilizzata  
30 sull'uomo o sull'animale, o somministrata all'uomo o all'animale, allo scopo

di ripristinare, correggere o modificare funzioni fisiologiche, esercitando un'azione farmacologica, immunologica o metabolica.

In un suo primo aspetto, la presente invenzione si riferisce ad un metodo per realizzare un film biopolimerico comprendente:

- 5 (i) predisporre una composizione acquosa (A) comprendente sieralbumina, preferibilmente sieralbumina bovina, e una composizione acquosa (B) comprendente glutaraldeide, in cui almeno una tra le composizioni acquose (A) e (B) comprende microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti almeno un principio attivo;
- 10 (ii) spruzzare e miscelare la composizione (A) e la composizione (B) in rapporto volumetrico compreso tra 1:2 e 2:1, preferibilmente in rapporto 1:1.

Il metodo secondo l'invenzione permette di realizzare un film biopolimerico *in situ*, direttamente sulla superficie sulla quale tale film deve essere applicato, tale superficie essendo preferibilmente un tessuto umano o animale, più preferibilmente una ferita.

La composizione acquosa (A) della fase (i) comprende sieralbumina, preferibilmente albumina da siero bovino (BSA – Bovine Serum Albumin) e acqua, preferibilmente acqua deionizzata, demineralizzata o di grado farmaceutico. La sieralbumina, e la BSA in particolare, è disponibile in commercio in vari gradi di purezza, generalmente maggiore o uguale a 95% in peso. Per la realizzazione della composizione (A) può essere utilizzata sieralbumina con qualunque grado di purezza, preferibilmente maggiore o uguale a 95% in peso, più preferibilmente maggiore o uguale a 98% in peso.

In una forma di realizzazione, la composizione acquosa (A) comprende circa 35-55% p/v, preferibilmente circa 40-50% p/v, di sieralbumina, preferibilmente di albumina da siero bovino, e acqua a 100% p/v.

La composizione acquosa (A) può essere ottenuta disperdendo la sieralbumina in acqua alla temperatura di circa 35-40°C, preferibilmente

circa 37°C, ed agitando vigorosamente la dispersione fino a completo scioglimento dell'albumina serica.

La composizione acquosa (B) della fase (i) comprende glutaraldeide (CAS No.:111-30-8) e acqua, preferibilmente acqua deionizzata, demineralizzata o di grado farmaceutico.

La glutaraldeide si presenta in forma liquida a temperatura ambiente ed è disponibile in commercio, generalmente sotto forma di soluzione acquosa concentrata (circa 50% v/v).

In una forma di realizzazione, la composizione acquosa (B) può comprendere 0,5-5,0% v/v, preferibilmente 1,0-3,0% v/v di glutaraldeide, e acqua a 100% v/v.

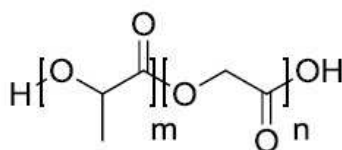
Almeno una tra le composizioni (A) e (B) della fase (i), preferibilmente la composizione (B), comprende microparticelle acido poli(lattico-co-glicolico) (denominato anche PLGA) comprendenti almeno un principio attivo.

In una forma di realizzazione, almeno una tra le composizioni (A) e (B), preferibilmente la composizione (B), può comprendere 20-80 g/l, preferibilmente 30-70 g/l, di microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti almeno un principio attivo.

In una forma di attuazione, la composizione acquosa (B) può comprendere:

- 0,5-5,0% v/v, preferibilmente 1,0-3,0% v/v di glutaraldeide,
- 20-80 g/l, preferibilmente 30-70 g/l, di microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti almeno un principio attivo, e
- acqua a 100% v/v.

L'acido poli(lattico-co-glicolico) è un copolimero da acido lattico (LA) e acido glicolico (GA) in varie proporzioni e può essere rappresentato dalla formula:



in cui  $m$  rappresenta il numero complessivo di unità monomeriche derivanti dall'acido lattico e  $n$  il numero complessivo di unità monomeriche derivanti dall'acido glicolico.

Il PLGA si degrada per idrolisi dei legami esterei. Il tempo di degradazione dipende dall'ambiente (in particolare da temperatura e umidità) e dal rapporto tra i due comonomeri: aumentando la quantità di acido lattico aumenta generalmente il tempo di degradazione.

Il rapporto molare LA:GA nell'acido poli(lattico-co-glicolico) utilizzato nella fase (i) del metodo secondo l'invenzione può variare da circa 75:25 a circa 50:50.

L'acido poli(lattico-co-glicolico) trova impiego nella realizzazione di dispositivi medici poiché, una volta degradato, i componenti monomerici sono rimossi dal corpo seguendo *pathways* naturali. Ad oggi non vi sono infatti evidenze di tossicità sistemica associata all'utilizzo di PLGA per le applicazioni di *drug-delivery* o nei biomateriali.

L'acido poli(lattico-co-glicolico) può essere prodotto in particelle con diverse granulometrie.

In una forma di attuazione, le microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti l'almeno un principio attivo hanno una dimensione media di circa 10-200  $\mu\text{m}$ .

Le microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) della fase (i) del metodo secondo l'invenzione sono prodotti commerciali, e possono essere ottenute secondo metodi noti al tecnico del ramo e pertanto qui non ulteriormente descritti.

Le microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) della fase (i) comprendono almeno un principio attivo.

Detto almeno un principio attivo può essere scelto tra antiinfiammatori, antibiotici, analgesici, batteriostatici, chemioterapici, cellule staminali, fattori di crescita e loro miscele.

In una forma di realizzazione preferita, l'almeno un principio attivo può essere scelto tra antibiotici, fattori di crescita e loro miscele.



In una forma di realizzazione, l' almeno un principio attivo può essere un antibiotico scelto tra amoxicillina, clorexidina, eritromicina, metronidazolo, loro sali e idrati farmacologicamente accettabili, e loro miscele, preferibilmente tra amoxicillina, suoi sali e idrati farmacologicamente accettabili, e loro miscele.

L'amoxicillina, i suoi sali e idrati sono antibiotici ad ampio spettro appartenenti alla famiglia delle penicilline, particolarmente adatti al trattamento e alla profilassi delle infezioni batteriche a carico dei tessuti, pertanto adatti al trattamento localizzato delle infezioni batteriche, in particolare delle infezioni del cavo orale, più preferibilmente di infezioni batteriche di ferite chirurgiche del cavo orale, quali ad esempio le perimplantiti. La contemporanea presenza di microparticelle di PLGA e almeno un antibiotico nel film biopolimerico ottenuto dal metodo dell'invenzione permettono di trattare localmente le infezioni batteriche delle ferite chirurgiche e contemporaneamente di stimolare la rigenerazione ossea.

In una forma di realizzazione preferita, la fase (i) del metodo secondo l'invenzione comprende predisporre una composizione acquosa (A) comprendente 35-55% p/v, preferibilmente 40-50% p/v, di sieroalbumina bovina e una composizione acquosa (B) comprendente 0,5-5,0% v/v, preferibilmente 1,0-3,0% v/v di glutaraldeide e 20-80 g/l, preferibilmente 30-70 g/l, di microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti almeno un antibiotico, preferibilmente scelto tra amoxicillina, clorexidina, eritromicina, metronidazolo, loro sali e idrati farmacologicamente accettabili, e loro miscele, più preferibilmente tra amoxicillina, suoi sali e idrati farmacologicamente accettabili, e loro miscele.

In una ulteriore forma di realizzazione preferita, il principio attivo può essere un fattore di crescita scelto tra proteine morfogenetiche dell'osso (BMPs), fattori di crescita dei fibroblasti (FGFs), fattori di crescita per il tessuto nervoso (NGFs) e loro miscele.

Le BMPs stimolano il differenziamento degli osteoblasti, favorendo la rigenerazione tissutale di osso e cartilagine. I FGFs costituiscono una famiglia di fattori di crescita coinvolti, tra l'altro, nell'angiogenesi e nella guarigione delle ferite. Pertanto, microparticelle di PLGS comprendenti  
5 almeno un fattore di crescita scelto tra proteine morfogenetiche dell'osso (BMPs), fattori di crescita dei fibroblasti (FGFs), fattori di crescita per il tessuto nervoso (NGFs) e loro miscele, sono particolarmente adatte alla realizzazione di un film biopolimerico per uso nel trattamento localizzato delle ferite del cavo orale.

10 In una ulteriore forma di realizzazione, il principio attivo può essere una miscela di almeno un antibiotico e almeno un fattore di crescita come sopra descritto. In questa forma di realizzazione il metodo permette di realizzare un film biopolimerico per l'applicazione localizzata di entrambi i principi attivi, particolarmente indicato per uso nel trattamento delle ferite  
15 del cavo orale, in particolare delle ferite chirurgiche del cavo orale.

In un'ulteriore forma di realizzazione, il principio attivo può essere un antiinfiammatorio scelto tra ketoprofene, flurbiprofene, celecoxib, acido acetil-salicilico, naprossene, diclofenac, loro sali e idrati farmacologicamente accettabili, e loro miscele.

20 In una forma di realizzazione preferita, le microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) possono comprendere 0,5-15,0% in peso di almeno un principio attivo come sopra descritto.

Le microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) possono essere caricate con un principio attivo o una miscela di principi attivi utilizzando metodi e  
25 apparecchiature note nel settore farmaceutico, ad esempio sonicando o omogeneizzando meccanicamente una sospensione del principio attivo o della miscela di principi attivi e PLGA in acqua, a temperatura ambiente.

Le microparticelle di PLGA prima di essere caricate con l'almeno un principio possono vantaggiosamente avere una granulometria compresa  
30 nell'intervallo circa 10-70  $\mu\text{m}$ .

Dopo essere state caricate con l'opportuna quantità di almeno un principio attivo, le microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) possono essere sospese nella composizione acquosa (A) e/o (B), preferibilmente nella composizione acquosa (B).

5 Opzionalmente, la composizione acquosa (A) e/o la composizione acquosa (B) possono comprendere ulteriori additivi farmacologicamente accettabili, quali ad esempio stabilizzanti, antischiuma, conservanti, etc..

Per la preparazione della composizione acquosa (A) e della composizione acquosa (B) possono essere utilizzate apparecchiature note nel settore  
10 chimico-farmaceutico per la preparazione di soluzioni e/o dispersioni acquose e pertanto qui non ulteriormente descritte.

La composizione acquosa (A) comprende sialoalbumina, ovvero una proteina reticolabile che, quando posta a contatto a temperatura ambiente con la glutaraldeide della composizione acquosa (B) reticola a formare un  
15 film solido e continuo. Pertanto, la composizione acquosa (A) e la composizione acquosa (B) possono essere miscelate solamente al momento dell'uso, ovvero al momento della formazione del film biopolimerico.

Pertanto, in una forma di realizzazione preferita, la fase (i) del metodo  
20 secondo l'invenzione comprende:

- predisporre un primo contenitore comprendente un volume  $V_A$  di composizione acquosa (A) come sopra descritta,
- predisporre un secondo contenitore comprendente un volume  $V_B$  di composizione acquosa (B) come sopra descritta,

25 in cui detto primo e secondo contenitore sono configurati per spruzzare simultaneamente detto volume  $V_A$  e  $V_B$ , o una frazione del volume  $V_A$  e  $V_B$ , sulla medesima area superficiale, in modo da ottenere la miscelazione delle composizioni acquose (A) e (B).

La fase (ii) del metodo secondo l'invenzione comprende spruzzare e  
30 miscelare la composizione acquosa (A) e la composizione acquosa (B) in

rapporto volumetrico compreso tra circa 1:2 e circa 2:1, preferibilmente in rapporto volumetrico circa 1:1.

Preferibilmente, la fase (ii) può comprendere spruzzare simultaneamente un volume  $V_A$ , o una sua frazione, di composizione acquosa (A) e un volume  $V_B$ , o una sua frazione, di composizione acquosa (B) sulla medesima area superficiale, in modo da ottenere miscelazione delle composizioni acquose (A) e (B), in cui il rapporto volumetrico  $V_A:V_B$  è compreso tra circa 1:2 e circa 2:1, preferibilmente in rapporto circa 1:1, ottenendo in tal modo un film biopolimerico.

10 La fase (ii) avviene preferibilmente a temperatura ambiente.

La miscelazione della composizione acquosa (A) e della composizione acquosa (B) causa la reticolazione dell'albumina serica ad opera della glutaraldeide. Durante la reticolazione le microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti l' almeno un principio attivo vengono inglobate nel film biopolimerico. La reticolazione della sieralbumina ad opera della glutaraldeide nelle condizioni di pressione e temperatura ambiente (ovvero circa 101,32 kPa e 25°C) è piuttosto rapida, il tempo di formazione di un film biopolimerico continuo e compatto essendo preferibilmente minore di circa 180 secondi dal termine della fase (ii).

20 Il metodo secondo l'invenzione permette la formazione di un film biopolimerico in modo semplice, veloce ed ergonomico, consentendo la formazione del film anche su superfici con morfologia complessa.

In presenza di umidità, le microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) vanno incontro a degradazione, consentendo il rilascio localizzato dell' almeno un principio attivo compreso nelle microparticelle stesse.

25 Pertanto, il metodo secondo l'invenzione permette di ottenere un film biopolimerico adatto al rilascio localizzato di almeno un principio attivo. Poiché la velocità di degradazione dell'acido poli(lattico-co-glicolico) può essere pre-determinata in funzione dell'abbondanza relativa dei comonomeri che costituiscono il copolimero, il metodo secondo

30

l'invenzione può permettere di ottenere un film biopolimerico adatto al rilascio localizzato e controllato di almeno un principio attivo.

In un suo ulteriore aspetto, la presente invenzione si riferisce ad un film biopolimerico ottenuto (o ottenibile) dal metodo secondo l'invenzione, così  
5 come sopra descritto.

Il film biopolimerico secondo l'invenzione trova impiego in campo medico nel rilascio localizzato, e preferibilmente controllato, di principi attivi.

Il film biopolimerico secondo l'invenzione può essere preferibilmente utilizzato per il trattamento localizzato delle infezioni batteriche e/o per  
10 promuovere la rigenerazione localizzata dei tessuti.

In una forma di attuazione preferita, il film biopolimerico può essere utilizzato per il trattamento localizzato delle infezioni batteriche e/o per promuovere la rigenerazione tissutale localizzata delle ferite, preferibilmente delle ferite del cavo orale, ancor più preferibilmente delle  
15 ferite chirurgiche del cavo orale.

Il film biopolimerico secondo l'infezione può essere utilizzato per il trattamento della perimplantite batterica.

Il film biopolimerico dell'invenzione viene prodotto *in situ* per mezzo di una applicazione spray e presenta il vantaggio di poter essere realizzato su  
20 ogni tipo di superficie, anche morfologicamente complessa quale il cavo orale. Il film biopolimerico dell'invenzione permette di applicare localmente quantità anche elevate di principi attivi, riducendo la necessità di somministrare gli stessi per via sistemica.

La quantità di principi attivi per unità di superficie (ovvero il dosaggio) è  
25 determinata dai volumi di composizione acquosa (A) e (B) erogati e pertanto facilmente e precisamente controllata.

Il film biopolimerico dell'invenzione a contatto con i tessuti umani o animali si degrada in breve tempo, generalmente in meno di tre mesi.

In un suo ulteriore aspetto, la presente invenzione si riferisce ad un  
30 metodo per il trattamento di localizzato dei tessuti umani o animali, preferibilmente per il trattamento localizzato delle infezioni batteriche e/o

per promuovere la rigenerazione localizzata dei tessuti umani o animali, comprendente

una fase (a) di spruzzare, preferibilmente simultaneamente e sulla medesima area superficiale, un volume  $V_A$  di una composizione acquosa (A) comprendente sieroalbumina, preferibilmente sieroalbumina bovina, e un volume  $V_B$  di una composizione acquosa (B) comprendente glutaraldeide,

in cui almeno una tra le composizioni acquose (A) e (B) comprende microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti almeno un principio attivo come sopra descritto,

in cui il rapporto volumetrico  $V_A:V_B$  è compreso tra 1:2 e 2:1, preferibilmente in rapporto 1:1.

In una forma di realizzazione, detto metodo può essere utilizzato per il trattamento localizzato delle infezioni batteriche e/o per promuovere la rigenerazione tissutale localizzata delle ferite, preferibilmente delle ferite del cavo orale, ancor più preferibilmente delle ferite chirurgiche del cavo orale dell'uomo o dell'animale.

In una forma di attuazione preferita, detto metodo può essere utilizzato per il trattamento della perimplantite batterica nell'uomo.

Inoltre, costituisce un ulteriore aspetto della presente invenzione l'uso del film biopolimerico dell'invenzione in ambito cosmetico e dermoestetico per il trattamento localizzato di ferite cutanee, ovvero di imperfezioni ed inestetismi cutanei (ad esempio cicatrici, bruciature, etc.).

In un suo ulteriore aspetto, la presente invenzione si riferisce ad un kit per la realizzazione di un film biopolimerico comprendente:

- un primo contenitore comprendente un volume  $V_A$  di composizione acquosa (A) come sopra descritta; e
- un secondo contenitore comprendente un volume  $V_B$  di composizione acquosa (B) come sopra descritta,

in cui almeno una tra le composizioni acquose (A) e (B) comprende microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti almeno un

principio attivo come sopra descritto, e

in cui detto primo e secondo contenitore sono configurati per spruzzare, preferibilmente simultaneamente, detto volume  $V_A$  e  $V_B$ , o una frazione di detto volume  $V_A$  e  $V_B$ , sulla medesima area superficiale, in rapporto  $V_A:V_B$  compreso tra circa 1:2 e circa 2:1, preferibilmente in rapporto circa 1:1.

Ulteriori caratteristiche e vantaggi della presente invenzione appariranno maggiormente chiari dagli esempi seguenti di forme di realizzazione preferite ma non esclusive dell'invenzione.

### **Metodi di misura**

10 Distribuzione della dimensione delle particelle: il diametro medio delle microparticelle e la distribuzione delle dimensioni sono state studiate utilizzando un analizzatore Coulter LS230 (Beckman). La distribuzione delle dimensioni delle microparticelle è stata quindi determinata in funzione della diffrazione della microsfera e rappresentata in funzione  
15 della percentuale del volume.

Rilascio principi attivi dal film biopolimerico: Il film biopolimerico è stato depositato su vetri in quantità pari a 50 mg (in triplicato). I vetri sono stati trasferiti in contenitori contenenti 5 ml di tampone fosfato salino (PBS) e incubati a 37°C in agitazione per 1, 2, 3 e 5 giorni. La quantità di  
20 antibiotico rilasciato in soluzione dalle microparticelle di PLGA è stata determinata prelevando al termine di ciascun periodo di incubazione (1, 2, 3 e 5 giorni) un'aliquota di soluzione ed analizzata mediante HPLC (Biorad) per determinare la quantità di principio attivo presente in soluzione.

### 25 **Caricamento delle microparticelle di PLGA**

Le microparticelle di PLGA caricate sono state preparate utilizzando il metodo della doppia emulsione. Emulsione acqua/olio/acqua: 1g di PLGA (50:50) è stato disciolto in diclorometano (5 ml) creando una fase oleosa. In seguito, l'amoxicillina (sodio o triidrato) è stata disciolta in 100 µl di  
30 acqua distillata e aggiunta alla fase oleosa. Successivamente, la miscela è stata omogenizzata usando un mixer per 2 min. a 4000 rpm (LM5 axial

impeller mixer). L'emulsione primaria acqua/olio è stata rapidamente aggiunta a un bagno da 200 ml di alcol polivinilico (0,3%) e omogeneizzata nuovamente per 2 min. a 2000 rpm. Questa emulsione acqua/olio/acqua è stata agitata a 300 rpm per 4 ore e le microparticelle sono state quindi lavate e raccolte prima della liofilizzazione.

### **Esempio 1**

La soluzione acquosa (A) al 45% (p/v) di BSA è stata preparata dissolvendo 22,5g di BSA in 50ml di acqua distillata deionizzata a 37°C. La soluzione è stata mantenuta a sotto agitazione circa 12 ore, fino a scioglimento completo dell'albumina da siero bovino.

Una soluzione (B) al 2% (v/v) di glutaraldeide è stata ottenuta diluendo la soluzione stock di glutaraldeide al 50% (v/v) con acqua distillata deionizzata.

In 1ml di soluzione (B) sono state sospesi 50 mg di microparticelle di PLGA caricate con 1%, 5% e 10% (p/p) di amoxicillina sodio, ottenendo la sospensione (B). La distribuzione delle dimensioni delle microparticelle di PLGA caricate è riportata in figura 1.

1ml di soluzione (A) è stato versato in una fiala da HPLC e posta all'interno di un contenitore collegato allo spruzzatore numero 1.

1ml di ciascuna sospensione (B) è stato posto all'interno di una seconda fiala collegata allo spruzzatore numero 2.

La soluzione (A) e le sospensioni (B) sono state spruzzate su vetrini. I fori degli spruzzatori 1 e 2 sono stati direzionati in modo che i due componenti spruzzati simultaneamente si mescolino completamente durante lo spraying, prima di toccare la superficie del vetrino.

Il film biopolimerico solidifica in 20-30 secondi e raggiunge la piena solidificazione in circa 2 minuti.

### **Esempio 2**

La procedura descritta nell'esempio 1 è stata ripetuta utilizzando particelle di PLGA comprendenti amoxicillina triidrato al 1%, 5% e 10% (p/p).



La distribuzione delle dimensioni delle microparticelle di PLGA caricate e non è riportata in figura 2.

**IL MANDATARIO**  
D.ssa Elena ROSSETTI  
(Albo iscr. n. 1124B)

**RIVENDICAZIONI**

1. Metodo per realizzare un film biopolimerico comprendente:
  - (i) predisporre una composizione acquosa (A) comprendente sieroalbumina, preferibilmente sieroalbumina bovina, e una  
5 composizione acquosa (B) comprendente glutaraldeide, in cui almeno una tra le composizioni acquose (A) e (B) comprende microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti almeno un principio attivo;
  - (ii) spruzzare e miscelare la composizione acquosa (A) e la  
10 composizione acquosa (B) in rapporto volumetrico compreso tra 1:2 e 2:1, preferibilmente in rapporto 1:1.
2. Il metodo secondo la rivendicazione 1, in cui l'almeno un principio attivo è scelto tra antiinfiammatori, antibiotici, analgesici, batteriostatici, chemioterapici, cellule staminali, fattori di crescita e loro  
15 miscele, preferibilmente tra antibiotici, fattori di crescita e loro miscele.
3. Il metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui il principio attivo è un antibiotico scelto tra amoxicillina, clorexidina, eritromicina, metronidazolo, loro sali e idrati farmacologicamente accettabili, e loro miscele, preferibilmente tra amoxicillina, suoi sali e  
20 idrati farmacologicamente accettabili, e loro miscele.
4. Il metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui il principio attivo è un fattore di crescita scelto tra proteine morfogenetiche dell'osso (BMPs), fattori di crescita dei fibroblasti (FGFs), fattori di crescita per il tessuto nervoso (NGFs) e loro miscele.
- 25 5. Il metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui le microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti l'almeno un principio attivo hanno una dimensione media di 10-200 micron.
6. Il metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui  
30 le microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendono 0,5-15,0% in peso dell'almeno un principio attivo.

7. Il metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui la composizione acquosa (A) comprende 35-55% p/v, preferibilmente 40-50% p/v, di sieroalbumina bovina e la composizione acquosa (B) comprende 0,5-5,0% v/v, preferibilmente 1,0-3,0% v/v di glutaraldeide e 20-80 g/l, preferibilmente 30-70 g/l, di microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti almeno un antibiotico, preferibilmente scelto tra amoxicillina, clorexidina, eritromicina, metronidazolo, loro sali e idrati farmacologicamente accettabili, e loro miscele, più preferibilmente tra amoxicillina, suoi sali e idrati farmacologicamente accettabili, e loro miscele.
8. Un film biopolimerico ottenuto dal metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, preferibilmente per uso medico, in particolare per il rilascio localizzato di principi attivi.
9. Il film biopolimerico secondo la rivendicazione 8 per uso nel trattamento localizzato delle infezioni batteriche e/o per promuovere la rigenerazione tissutale delle ferite, preferibilmente delle ferite del cavo orale.
10. Kit per la realizzazione di un film biopolimerico comprendente:
- un primo contenitore comprendente un volume  $V_A$  di composizione acquosa (A) come descritta in una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti; e
  - un secondo contenitore comprendente un volume  $V_B$  di composizione acquosa (B) come descritta in una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti,
- in cui almeno una tra le composizioni acquose (A) e (B) comprende microparticelle di acido poli(lattico-co-glicolico) comprendenti almeno un principio attivo come descritto in una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti e in cui detto primo e secondo contenitore sono configurati per spruzzare, preferibilmente simultaneamente, detto volume  $V_A$  e  $V_B$ , o una frazione di detto volume  $V_A$  e  $V_B$ , sulla medesima area

superficiale, in rapporto  $V_A:V_B$  compreso tra 1:2 e 2:1, preferibilmente in rapporto 1:1.

IL MANDATARIO  
D.ssa Elena ROSSETTI  
(Albo iscr. n. 1124B)

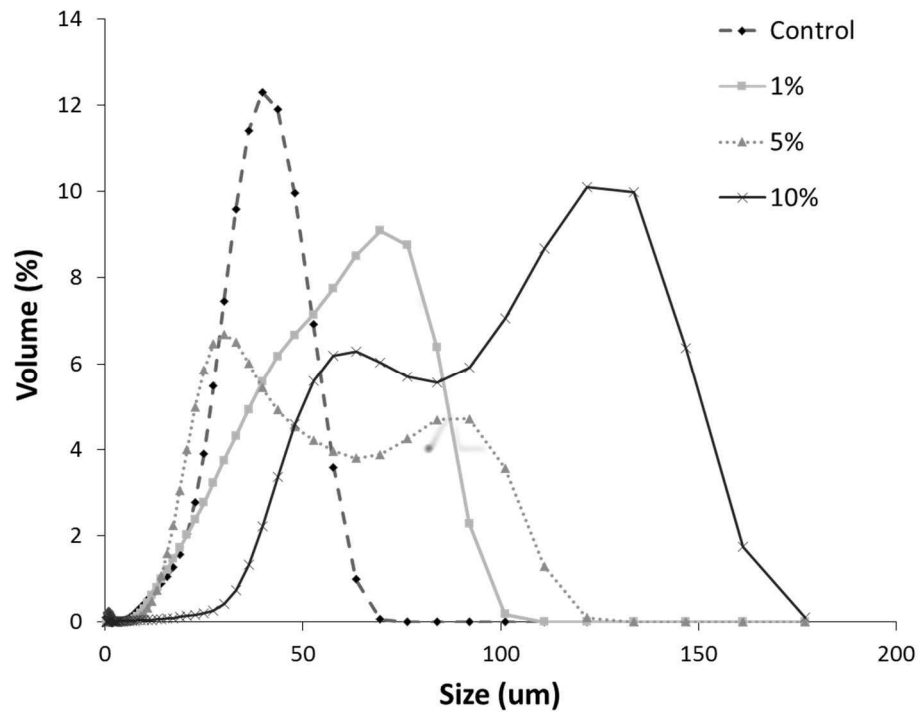


FIG. 1

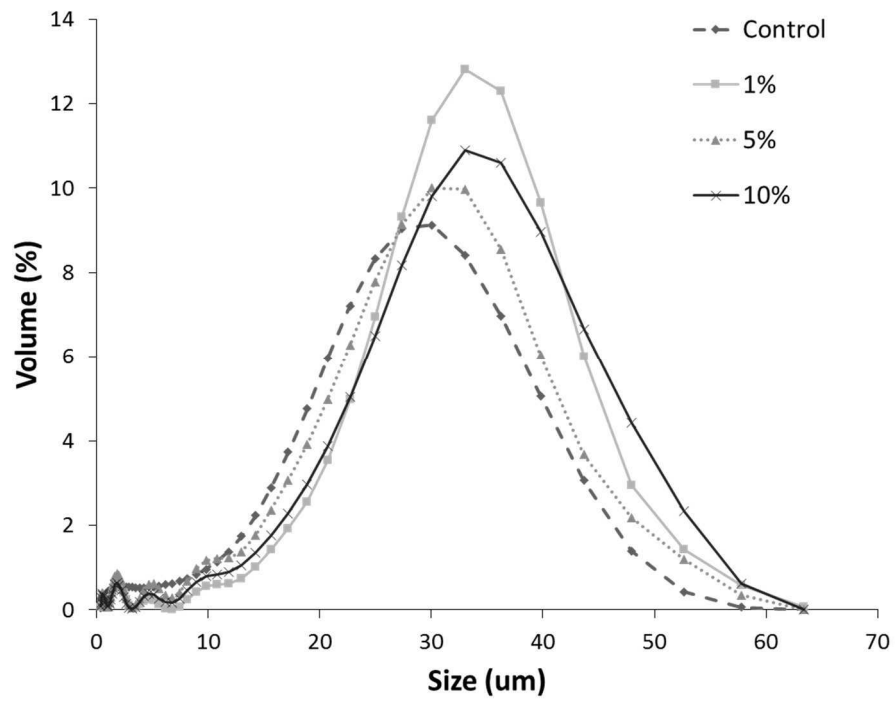


FIG. 2