



(19) INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
PORTUGAL

(11) *Número de Publicação:* PT 93522 B

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)

A61K009/127 A

A61K009/107 B

(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) *Data de depósito:* 1990.03.20

(30) *Prioridade:* 1989.03.21 CH 1041/89
1990.01.12 CH 103/90

(43) *Data de publicação do pedido:*
1990.11.07

(45) *Data e BPI da concessão:*
12/95 1995.12.04

(73) *Titular(es):*

F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE., (SA. OU AG.)
124 GRENZACHERSTRASSE CH-4002 BASILEIA
CH

(72) *Inventor(es):*

WAYNE HEIN CH
ANDREAS SUPERSAXO CH
HANS STEFFEN CH

(74) *Mandatário(s):*

ANTÓNIO LUÍS LOPES VIEIRA DE SAMPAIO
RUA DE MIGUEL LUPI 16 R/C 1200 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES DE MISTURAS DE MICELAS

(57) *Resumo:*

[Fig.]

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 93.522

REQUERENTE: F.HOFFMANN-LA ROCHE AG., suíça, com sede em
124 Grenzacherstrasse, CH-4002 Basel, Suíça,

EPÍGRAFE: "Processo para a preparação de soluções de mis-
turas de micela"

INVENTORES: Wayne Hein,
Andreas Supersaxo,
Hans Steffen,

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4.º da Convenção de Paris
de 20 de Março de 1883.

Suíça, 21 de Março de 1989, sob o Nº 1041/89
Suíça, 12 de Janeiro de 1990, sob o Nº 103/90

C.

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES
DE MISTURAS DE MICELAS"

A presente invenção refere-se à utilização de micelas misturada com veículos para a administração parenteral de substâncias com a actividade farmacêutica, assim como a soluções de micelas misturadas que contêm determinadas substâncias com actividade farmacêutica.

É conhecida a utilização de misturas de micelas como um veículo para substâncias com actividade farmacêutica. A patente de invenção alemã PS 27 30 570 descreve soluções de misturas de micelas para a administração parenteral de substâncias activas solúveis em gorduras, isto é, substâncias activas que não são solúveis em água ou que são muito dificilmente solúveis em água, especialmente benzodiazepinas e vitamina K. A patente de invenção europeia A2-133 258 descreve soluções de misturas de micelas para administração parenteral de vitamina E. Além disso, as misturas de micelas têm sido propostas para a produção de soluções aquosas de proteínas (patente de invenção europeia A1-252004). Na utilização de misturas de micelas para a solubilização de anti-inflamatórios não esteróides de acordo com a patente de invenção europeia A1-280 387 o problema está na melhoria da tolerância das substâncias activas no caso de injeções.

No caso de administração parenteral, especialmente intersticial, por exemplo, intramuscular, subcutânea, ou intra-

dérmica, de substâncias com actividade farmacêutica, as que têm peso molecular inferior a 1000 podem ser absorvidas linfaticamente, enquanto as substâncias activas cujos pesos moleculares são cerca de 16000 ou superiores são absorvidas, em grande extensão, a partir do sistema linfático.

Pode, contudo, ser desejável introduzir também no sistema linfático substâncias activas de baixo peso molecular, que não são, normalmente, transportadas em uma grande extensão pelo sistema linfático, e assim transportá-las ao destino. Isto, é especialmente verdade no caso de substâncias activas que influenciam o sistema imunológico, tais como imuno-suppressores e imuno-estimulantes. Verificou-se, surpreendentemente, que as misturas de micelas são transformadas, no caso de aplicações intersticiais, em lipossomas que são absorvidos e transportados pelo sistema linfático.

No caso de determinadas hipóteses que têm sido formuladas, as substâncias activas contidas nas misturas de micelas são absorvidas pelos lipossomas formados no organismo. A validade destas hipóteses, pode ser verificada experimentalmente por determinação do coeficiente de distribuição da substância activa em octanol/água. As substâncias activas cujo coeficiente de distribuição no sistema octanol/água é superior a cerca de 10^4 , de preferência, superior a aproximadamente 10^6 , satisfazem a hipótese, isto é, são absorvidas pelos lipossomas que são formados.

As vitaminas solúveis em gordura, por exemplo vitamina A, E e K, têm um coeficiente de distribuição $> 10^6$ em octanol/água. Como se referiu antes, as soluções de misturas de micelas de tais vitaminas são conhecidas. Contudo, não é conhecido, que estas

4.

vitaminas, depois de administração parenteral, especialmente intersticial, como soluções de misturas de micelas passem para os vasos linfáticos sob a forma de lipossomas.

O objectivo desta invenção é, assim, a utilização de misturas de micelas como veículos para administração terapêutica parenteral, especialmente intersticial, de substâncias activas de baixo peso molecular tendo um coeficiente de distribuição em octanol/água superior a aproximadamente 10^4 , sendo excluídas as vitaminas solúveis em gorduras.

Como substâncias activas de baixo peso molecular pretende-se significar, na presente invenção, substâncias activas com um peso molecular superior a 10 000. As substâncias activas de baixo peso molecular têm, de preferência, um peso molecular inferior a 5000.

São exemplos de substâncias activas, no caso de administração terapêutica parenteral, especialmente intersticial, que utilizam, de acordo com esta invenção, as micelas misturadas como veículo, os imuno-moduladores, por exemplo, imuno-supressores tais como o ácido (all-E)-3,7-dimetil-9-(2-trifluorometil)-6-(noniloxi)-fenil-2,4,6,8-nonatetraenóico e compostos relacionados que estão descritos na patente de invenção europeia Al-169 571; ciclosporina ou FK 506 [*Immunology Today* 10, (1989) 6-9], assim como os seus derivados lipofílicos, por exemplo, derivados alcanoil(C_1 - C_{20})-oxi; imuno-estimulantes tais como N-acetilmuramil-L-alanil-L-iso-glutamyl-L-alanil-2-(1',2'-dipalmitoil)-fosfatidil-etanolamina [*Cancer Immunol. Immunother.* 22 (1986), 191-196]; antígenos peptídicos e antígenos oligossacáridos ou os seus derivados lipofílicos, por exemplo, conjugados



péptidos-ácidos gordos (patente de invenção europeia (A2-290 246); agentes de contraste para cintilografia linfática; citostáticos, por exemplo, complexos de cis-Pt tais como cis-bis-N-decilaminodiacetato-1,2-diaminociclohexano-platina; ou antraciclinas tais como doxorrubicina ou metotrexacto; ou os seus derivados lipofílicos tais como os ésteres de ácidos gordos referidos antes, ou derivados lipofílicos de 5-fluoro-2'-desoxiuridina, por exemplo, palmitoato (Microencapsulation Vol. 5, Nº 1, (1988, p. 1-11) e fosfato (patente de invenção japonesa Kokai 1091195); derivados lipofílicos de 1- β -D-arabinofuranosil-citosina (Ara-C) tais como oleato e palmitato / Int. J. Cancer 37 (1986), 149-154] e colesteryl oxycarbonilglycil-Ara-C (Chem Pharm. Bull Vol. 36 (1988) 4060 e seg.); fosfatidilinositol e lisofosfolípidos (DE-OS 3008082); e agentes anti-infecciosos tais como anfotericina B, nistatina, gentamicina, cloroquina, penicilinas tal como ampicilina, e tetraciclinas ou os seus derivados lipofílicos tais como os ésteres de ácidos gordos referidos antes.

As substâncias activas anteriormente referidas podem incorporar-se em misturas de micelas utilizando tecnologias conhecidas per se, por exemplo, as descritas na patente de invenção alemã PS 27 30 570. Comparando com as soluções de lipossomas, as soluções de misturas de micelas são mais simples de preparar e têm uma estabilidade melhorada. As soluções de misturas de micelas preparadas de acordo com esta invenção combinam, assim, a vantagem da estabilidade das soluções de misturas de micelas com a eficácia melhorada de substâncias activas aplicadas linfaticamente e/ou lipossomaticamente.

No âmbito da presente invenção devem considerar-se como misturas de micelas ou soluções de misturas de micelas as soluções aquosas, homogêneas de derivados de ácido colânico, especialmente os seus sais alcalinos e lípidos. Os exemplos de sais de ácido colânico são colato, glicolato, taurocolato, desoxicolato, glico- e taurodesoxicolato, quenodesoxicolato; e glico- e tauroquenodesoxicolato de sódio. Os exemplos de lípidos naturais, semi-sintéticos e totalmente sintéticos, especialmente fosfatidil-colinas, glicerol éter fosfatidos, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, esfingomielina, plasmalogenes, cardiolipina, sulfatidos e monoglicéridos. As misturas de micelas podem conter, como componentes adicionais, colesterol (até cerca de 30 % molar com base na quantidade de lípido) e lípidos com grupos carregados negativamente ou positivamente tais como ácidos fosfatídicos ou esteárilamina (até cerca de 10 % molar com base na quantidade de lípido). As soluções de misturas de micelas podem preparar-se por mistura simples dos ingredientes individuais. É, contudo, vantajoso dissolver o ingrediente lípido, o formador das micelas e as substância(s) activa(s) que é/são dificilmente solúveis em água ou insolúveis em água, num dissolvente orgânico, e então evaporar o dissolvente orgânico e adicionar depois a água, um aditivo de isotonização e, eventualmente, os ingredientes adicionais, tendo como regra que os aditivos de isotonização e também a maior parte dos ingredientes opcionais se misturam com água antes da adição do resíduo de evaporação referido. Como dissolventes orgânicos devem considerar-se aqueles em que os componentes a solubilizar são suficientemente solúveis, tais

como por exemplo, alcanóis inferiores, especialmente o etanol.

O procedimento especialmente preferido consiste na agitação intensiva de cerca de 1 parte molar de formador de micelas, aproximadamente 1 parte molar de ingrediente lípido e cerca de 0,3 a 1 parte molar de água, opcionalmente na presença de um máximo de 2 % de um dissolvente orgânico tal como etanol, assim como as substância(s) activa(s) que é/são dificilmente solúveis em água ou insolúveis em água, até a mistura ficar homogênea, adicionam-se depois água, os aditivos de isotonização e, eventualmente, os ingredientes adicionais, até se obter a diluição ou concentração desejada. E, contudo, também possível efectuar o procedimento anterior sem a substância activa e dissolver apenas no fim a(s) substância(s) activa(s) na solução de micelas.

A proporção entre o ingrediente lípido e o formador de micelas está compreendido entre cerca de 0,1:1 e 2:1. As proporções de mistura de 0,1:1 a 0,8:1 e 1,5:1 a 2:1 são preferidas. As proporções de mistura de 0,8:1 a 1,5:1 são especialmente preferenciais.

A quantidade de ingrediente lípido mais formador de micelas na solução para injeção pode variar entre largos limites e pode atingir, por exemplo, 20-200 mg/ml de solução para injeção.

A quantidade de fármaco na solução de misturas de micelas pode também variar entre largos limites e pode atingir, por exemplo, 0,1-100 mg/ml de solução para injeção.

Podem adicionar-se anti-oxidantes, tais como tocoferóis, palmitato ascórbico, ascorbato de sódio ou sulfito de sódio, para evitar reacções de oxidação da substância activa e dos materiais

4.

veículo.

Podem também adicionar-se substâncias adicionais para ajustamento do pH, por exemplo, fosfato, citrato ou tampão Tris; para isotonização, por exemplo, cloreto de sódio, manitol, sorbitol ou glicose e para conservação, por exemplo, p-hidroxibenzoato de metilo ou de propilo, álcool benzílico ou fenol. Eventualmente, podem converter-se, mediante procedimento de liofilização convencionais, as soluções de misturas de micelas em preparações secas.

Os exemplos seguintes pretendem ilustrar ainda a invenção.

Exemplo 1

Preparação de Soluções de Misturas de Micelas

Substância activa ácido (all-E)-3,7-dimetil-9-(2-trifluorometil)-6(nonil-oxi)-fenil-2,4,6,8-nonatetraenóico (A).

Dissolveram-se 30,8 mg de lecitina de soja (Epikuron 200, Lucas Meyer, Hamburgo, Alemanha), 21,40 mg de glicocolato de sódio e 0,4 mg de ácido (all-E)-3,7-dimetil-9-(2-trifluorometil)-6-(noniloxi)-fenil-2,4,6,8-nonatetraenóico em 5 ml de clorofórmio/metanol (1:1 v/vol) num frasco redondo. Dispersou-se a película que resultou depois da evaporação do dissolvente orgânico (evaporador rotativo, 40°C) em 1 ml de solução a 3,8% de manitol (g p/vol). Ajustaram-se as micelas obtidas para pH $6,0 \pm 0,1$ com HCl 1N, esterilizou-se e introduziu-se em frascos pequenos e liofilizou-se. As misturas de micelas são preparadas na ausência de luz e sob atmosfera de gás inerte, por exemplo, sob atmosfera de azoto, a fim de evitar as

reações de isomerização da substância activa, bem como as reações de oxidação da substância activa e dos materiais veículo, especialmente de fosfolípidos.

Exemplo 2

Substância activa 3',5'-di-O-palmitoil-5-fluoro-2'-desoxuridina (B)

Dissolveram-se 30,8 g de lecitina de soja (Epikuron 200, Lucas Meyer, Hamburgo, Alemanha), 21,67 mg de glicocolato de sódio e 1,0 mg de 3',5'-di-O-palmitoil-5-fluoro-2'-desoxi-uridina em 5 ml de clorofórmio/metanol (1:1, % vol/vol) num frasco redondo. Dispersou-se a película que resultou depois da evaporação do dissolvente orgânico (evaporador rotativo, 40°C) em 1 ml de solução a 3,8% de manitol. Ajustaram-se as micelas obtidas para pH 6,0±0,1 com HCl 1N, esterilizou-se e introduziu-se em ampolas. Efectuou-se a preparação das micelas sob atmosfera de gás inerte, por exemplo, sob atmosfera de azoto, a fim de evitar reações de oxidação da substância activa e dos materiais veículo, especialmente dos fosfolípidos.

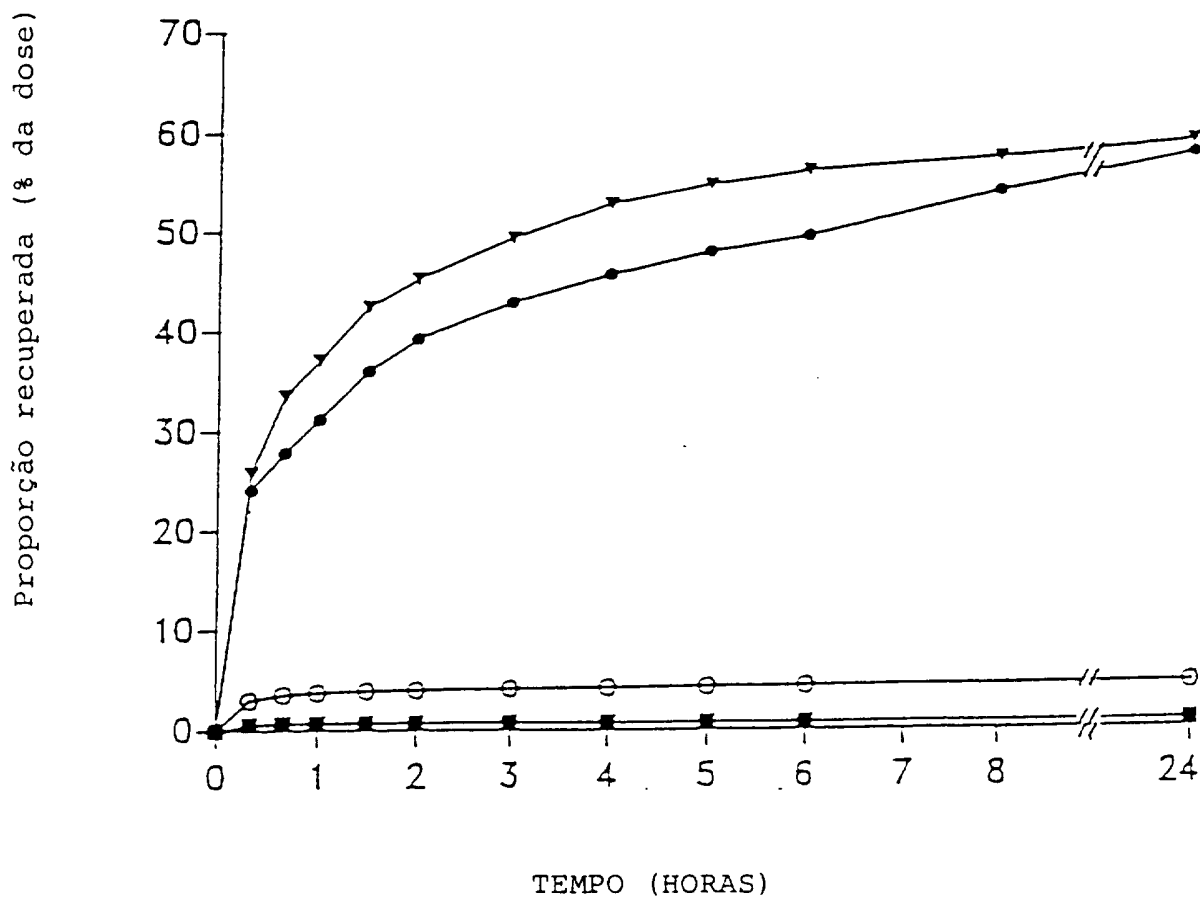
Administraram-se as soluções de misturas de micelas por via intradérmica, à pata direita posterior de animais de experiência (carneiro) por intermédio de um aparelho descrito no pedido de patente de invenção europeia Nº 272530. Removeu-se o sangue através de um catéter na veia jugular e removeu-se o fluido linfático através de uma cânula nos vasos de ramificação de linfa no nódulo poplítico de linfa, direito [Pharm. Res. Vol. 5, (1988), 472-476].

A Figura 1 mostra a quantidade da dose administrada

que se encontra na linfa. Para efeitos de comparação são apresentados os valores que se obteriam com duas substâncias activas de baixo peso molecular cujo coeficiente de distribuição em octanol/água fosse $< 10^{34}$.

A Figura 2 mostra as quantidades de substância activa A existentes na linfa depois de administração em misturas de micelas e como uma formulação oleosa.

Figura 1



Quantidades cumulativas de substância activa encontrada nos vasos de drenagem de linfa depois de administração i.d. em misturas de micelas.

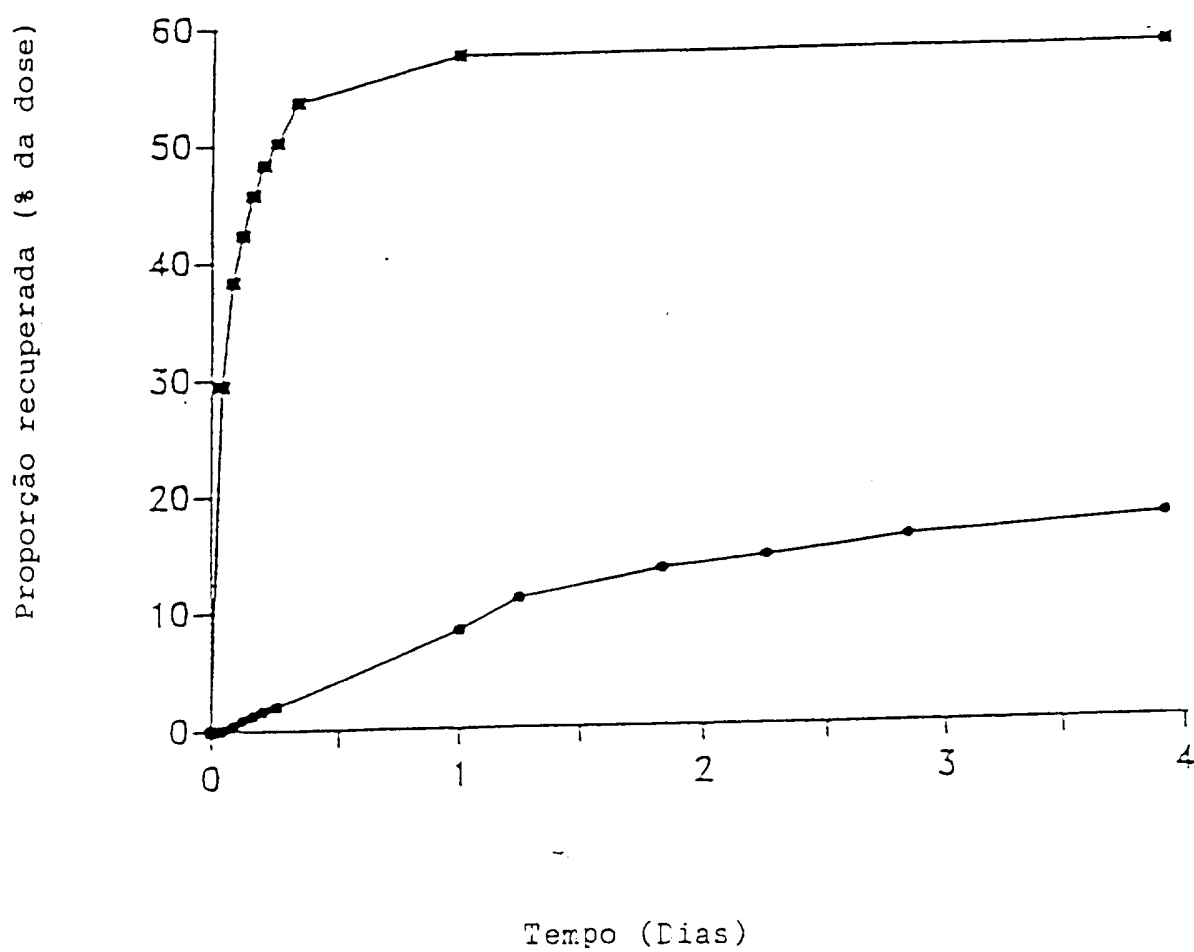
- ▼ Substância activa B (1 mg/ml)
- Substância activa A (0,4 mg/ml)
- Diclofensina (1 mg/ml)
- Diazepam (0,3 mg/ml)

Composição das micelas misturadas:

Lecitina de soja (40 mM) e glicocolato de sódio a 1:1 numa solução aquosa a 3,8 % de manitol

Volume de injeção: 1 ml.

Figura 2



Quantidades cumulativas de substância activa A encontrada nos vasos de ramificação de linfa depois da administração i.d.

- em misturas de micelas
- numa formulação oleosa.

R E I V I N D I C A Ç Õ E S

1.- Processo para a preparação de soluções de misturas de micelas, caracterizado pelo facto de se misturar essencialmente cerca de 1 parte molar de um formador de micelas, 0,3 a 1 parte molar de água, um imunomodulador e, eventualmente, adjuvantes farmacêuticos até 2%.

2.- Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de o imunomodulador ser o ácido (todo-E)-3,7-dimetil-9-(2-trifluorometil)-6-(noniloxi)-fenil-2,4,6,8-nonatetraenóico.

3.- Processo para a preparação de veículos apropriados para a administração terapêutica parenteral de substâncias activas de baixo peso molecular, possuindo um coeficiente de distribuição em octanol/água maior do que cerca de 10^4 , caracterizado pelo facto

4.

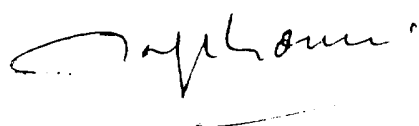
de se utilizarem misturas de micelas preparadas pelo processo de acordo com a reivindicação 1, excluindo-se vitaminas solúveis em gorduras.

4.- Processo de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo facto de as substâncias activas terem um coeficiente de distribuição em octanol/água superior a cerca de 10^6 e um peso molecular inferior a 5.000.

5.- Processo de acordo com as reivindicações 3 ou 4, caracterizado pelo facto de a substância activa ser um agente imunomodulador, um agente citostático, um agente anti-infeccioso ou um agente de contraste.

Lisboa, 20 de Março de 1990

O Agente Oficial da Propriedade Industrial



R E S U M O

=====

C

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE SOLUÇÕES DE
MISTURAS DE MICELAS"

Descreve-se um processo para a preparação de soluções de misturas de micelas, caracterizado pelo facto de se misturar essencialmente cerca de 1 parte molar de um formador de micelas, 0,3 a 1 parte molar de água, um imunomodulador e, eventualmente, adjuvantes farmacêuticos até 2%.

Aplicação na preparação de substâncias veiculares para a administração parentérica de medicamentos.

Lisboa, 20 de Março de 1990

Agente Oficial da Propriedade Industrial

