

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 97.610

REQUERENTE: NOVO NORDISK A/S, dinamarquesa, com sede em
Novo Allé, 2880 Bagsvaerd, Dinamarca

EPÍGRAFE: "Processo para a preparação de composições farmacêuticas contendo substâncias biologicamente activas do grupos dos N-glicofuróis"

INVENTORES: Rolf Kühlman Hjortkjaer,
Erik Bechgaard,
Sveinbjörn Gizurarson,

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

Dinamarca, 10 de Maio de 1990, sob o N.º.: 1170/90

Dinamarca, 30 de Agosto de 1990, sob o N.º.: 2075/90

NOVO NORDISK A/S

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO SUBSTÂNCIAS BIOLÓGICAMENTE ACTIVAS DO GRUPO DOS N-GLICOFURÓIS"

A presente invenção refere-se a composições farmacêuticas para a administração de uma substância biologicamente activa a um mamífero através das membranas mucosas.

A administração por via injectável (endovenosa intramuscular ou subcutânea) de substâncias com actividade biológica é normalmente considerada como a forma mais conveniente de administração quando se pretende alcançar um efeito sistémico acentuado e rápido, por exemplo em 3 a 5 minutos, e quando a substância activa não é absorvida ou é inactivada no tracto gastrintestinal ou por metabolismo hepático de primeira passagem. Contudo, a administração por meio de injeção apresenta um conjunto de inconvenientes. Assim, requer o uso de seringas estéreis e pode provocar a dor e irritação, particularmente no caso de injeções repetidas, incluindo o risco de infecção. Além disso, as injeções não podem ser administradas por indivíduos sem treino.

A administração intranasal é correntemente considerada com interesse especial, na tentativa de evitar os inconvenientes causados pela invasão directa do organismo que se verifica quando da administração parental. Além disso, esta via de administração pode ser utilizada por forma conveniente como uma via alternativa à injeção por via parentérica, quando se

necessita de um início rápido de acção, e pode ser realizada por uma pessoa sem qualquer treino.

Para ser uma alternativa atraente à injeção, a administração intranasal deve proporcionar uma relação similar entre a dose e a concentração plasmática e não deve provocar qualquer dor ou irritação importante no doente nem irritação irreversível na mucosa nasal. Contudo, no caso do tratamento para indicações de ameaça grave para a saúde, pode ser aceitável uma irritação local relativamente importante na mucosa.

Na administração nasal, a substância com actividade biológica deve ser aplicada na mucosa de forma a poder penetrar ou ser absorvida através desta. Para penetrar o muco, o veículo deve ser biocompatível com este e, portanto, ter um certo grau de hidrofilia. Contudo, o veículo deve também possuir de preferência propriedades lipofílicas para dissolver uma quantidade fisiologicamente activa de certas substâncias com actividade biológica.

A ampla rede de capilares na mucosa nasal é particularmente adequada para proporcionar uma absorção sistémica eficaz e rápida de fármacos. Além disso, a membrana epitelial nasal é praticamente constituída por uma única camada de células epiteliais (epitélio pseudo-estratificado) e é, portanto, mais adequada para administração de um fármaco de que outras superfícies de mucosas que têm camadas epiteliais escamosas, tais como a boca, vagina, etc. No entanto, estas superfícies são também apropriadas para a aplicação de substâncias com actividade biológica, utilizando um sistema de libertação de fármaco de acordo com a presente invenção.

A absorção nasal eficaz é considerada muito pequena se as substâncias com actividade biológica não forem administradas sob uma forma solúvel na água (Proctor, 1985). Isto limita severamente a aplicação de substâncias com actividade biológica, as quais devem ser solúveis e estáveis em soluções aquosas.

Um grande número de substâncias biologicamente activas, incluindo fármacos (tais como as benzodiazepinas), vitaminas e vacinas, têm um grau limitado de solubilidade na água e, muito frequentemente não é possível dissolver uma quantidade clinicamente importante num volume relativamente pequeno que possa ser aplicado por via intranasal.

Para as composições líquidas é essencial que uma quantidade eficaz de substância(s) biologicamente activa(s) se possa dissolver num volume inferior a cerca de 300 μ l. Um volume maior pode ser desagradável para o doente e será obviamente expelido anteriormente através das narinas ou posteriormente através da faringe. Como resultado, parte da substância activa perde-se no local da absorção e na prática será impossível a administração com reprodutibilidade de uma dose correcta. O volume para seres humanos adultos situa-se de preferência entre cerca de 1 μ l e cerca de 1000 μ l e com maior preferência entre cerca de 50 μ l e cerca de 150 μ l por narina.

Na cavidade nasal, o epitélio da mucosa está coberto com muitos cílios, semelhantes a pêlos, sendo um mecanismo de defesa importante para o organismo dos mamíferos contra o pó inalado, alergénios e microrganismos. A semi-vida normal para

substâncias não absorvidas administradas na cavidade nasal é cerca de 15 minutos devido à desobstrução mucociliar que remove partículas estranhas e o excesso de muco directamente para a faringe. Por este motivo prefere-se que a absorção ocorra rapidamente, de preferência dentro de 1 a 20 minutos.

Foi desenvolvida uma variedade de sistemas veiculares para a libertação nasal de substâncias com actividade biológica. Até agora a bibliografia tem indicado que a absorção de substâncias com actividade biológica através da mucosa nasal pode tornar-se possível mediante a incorporação em uma composição de um sistema veicular especial ou mediante a adição de certos agentes que reforçam a absorção.

Lao e Slattery (1989) estudaram as características de absorção do diazepam e do lorazepam após a administração nasal, para o tratamento de estados epilépticos. A fim de solubilizar estes fármacos, foi escolhido um agente tensioactivo não iónico, o óleo de rícino polioxietilado, como o menos irritante de vários dissolventes estudados incluindo o polietilenoglicol 400. A absorção do diazepam foi de 84 e 72 %, respectivamente, em dois adultos, medida num período de 60 horas. Contudo a concentração máxima não se observou até 1,4 horas após a administração nasal e foi apenas cerca de 27 % em relação à administração por via endovenosa, o que indica que a maior parte da absorção se tinha dado provavelmente após a substância em ensaio ter sido removida para a faringe e ingerida. Obtiveram-se resultados similares para pastilhas e mesmo com um tempo mais longo para o máximo (2,3 horas). Os autores concluíram que a via intranasal de administração tem um potencial limitado para o tratamen

to intenso dos ataques epilépticos.

Wilton et al. (1988) tentaram administrar midazolam a 45 crianças para obterem uma sedação pré-anestésica. Os volumes aplicados mostraram-se impraticáveis e excederam o volume máximo necessário para a administração eficaz, originando tosse e espirros com expulsão de parte da dose. A publicação não refere o sistema de veículo aquoso utilizado.

A patente de invenção internacional publicada Nºs WO 86/04233 descreve uma composição farmacêutica em que o fármaco (por exemplo, diazepam) é dissolvido numa mistura de propulsor e codissolvente, por exemplo, glicerolfosfatido. Esta composição requer um sistema pressurizado e pelo menos um propulsor de aerossol, um hidrocarboneto halogenado.

Morimoto et al. (1987) estudaram uma preparação em gel para aplicação nasal, nos ratos, de nifedipina contendo como agente gelificante carbopol (ácido poliacrílico) em polietilenoglicol, 400 (PEG 400), para se obter uma acção prolongada e grande biodisponibilidade do fármaco. Foi escolhida uma mistura de quantidades iguais de carbopol e de PEG 400. Foi demonstrado que a aplicação nasal proporcionou maior biodisponibilidade de nifedipina do que após a administração peroral, mas que a concentração plasmática máxima não se observou até 30 minutos depois e foi apenas menor ou igual a 10 % quando comparada com a administração endovenosa.

O pedido de patente de invenção dinamarquesa Nº 2586/87 descreve composições farmacêuticas que contêm um esteróide anti-inflamatório, água e apenas 2 a 10 % em volume de propileno glicol, 10 a 25 % em volume de polietilenoglicol 400 e 1 a 4 %

em volume de Twen 20.

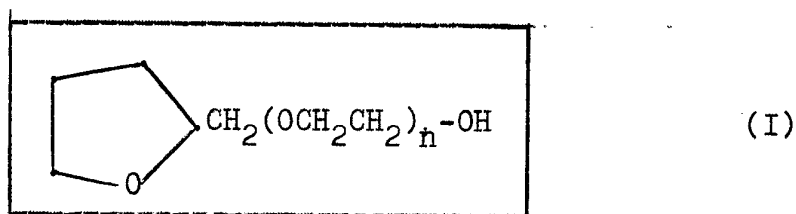
A patente de invenção norte-americana Nº 4.153.689 descreve um princípio para a obtenção de uma solução aquosa estável de insulina destinada a administração intranasal. Tem um pH compreendido entre 2,5 e 4,7 e contém 0,1 a 20% em peso de um agente estabilizante escolhido no grupo constituído por a) pelo menos um agente tensioactivo não iónico com um valor de equilíbrio hidrófilo-lipófilo compreendido entre 9 e 22; b) um agente estabilizante escolhido entre polietilenoglicóis tendo um peso molecular compreendido entre 200 e 7500; e c) misturas dos agentes estabilizantes mencionados nas alíneas a) e b).

A patente de invenção internacional publicada Nº.: 90/02737 descreve a administração intranasal de hipnóticos de benzodiazepina em um veículo nasal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico. O veículo pode ser uma solução de cloreto de sódio, um álcool, glicol, um éter glicólico ou uma sua mistura. Não há indicação de que a presença de um glicol ou de um éter glicólico confirmam vantagens especiais à preparação nem que a sua presença seja crítica para a administração.

Outras preparações para a administração nasal ou sublingual estão descritas na patente de invenção norte-americana Nº 4 746 508 que refere a absorção de, por exemplo, insulina mediante a utilização de ácido fusídico ou seus derivados como promotores da absorção e, na patente de invenção internacional publicada Nº WO 87/05210 descreve-se uma preparação farmacêutica sublingual sob a forma de "spray" contendo eventualmente PEG e requerendo etanol, diglicérido e/ou triglicérido de um ácido gordo e um gás propulsor aceitável sob o ponto de vista farmacêutico.

O principal objectivo da presente invenção é proporcionar composições farmacêuticas para aplicação de uma substância com actividade biológica, através da membrana mucosa de um mamífero, que seja capaz de produzir uma alta concentração plasmática de substância com actividade farmacêutica quase tão rápida como a que se obtém por administração endovenosa, sem causar prejuízo inaceitável à membrana mucosa. Este objectivo é atingido pelas composições da presente invenção.

As preparações farmacêuticas da presente invenção são caracterizadas por conterem uma ou mais substâncias escolhidas no grupo constituído por n-glicofuróis, representado pela fórmula geral,



na qual n representa um número inteiro de 1 a 8;
e n-etilenoglicóis representados pela fórmula geral



na qual p representa um número inteiro de 1 a 14.

De acordo com um aspecto da presente invenção os n-glicóis são aqueles em que p representa um número inteiro de 1 a 8 quando não está presente glicofurol e quando a substância com actividade biológica é uma benzodiazepina.

De acordo com um aspecto preferido da presente invenção, os n-glicóis são aqueles em que p representa um número inteiro

de 1 a 8 e de acordo com um aspecto mais preferido, a preparação contém tetraetilenoglicol.

As composições farmacêuticas da presente invenção de preferência contêm n-glicofuróis em que n representa 1 ou 2.

De acordo com um aspecto preferido da presente invenção, proporcionam-se composições farmacêuticas que contêm um ou mais n-glicofuróis e, eventualmente, um ou mais n-etilenoglicóis.

As composições farmacêuticas desta invenção podem conter uma substância com actividade biológica escolhida no Grupo constituído por hormonas supra-renais, corticosteróides e derivados tais como ACTH e análogos, teracosactrina, alsacido, cortisona, acetato de cortisona, hidrocortisona, álcool de hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, hemi-succinato de hidrocortisona, prednisolona, terbutato de prednisolona, 9-alfa-fluoroprednisolona, acetonido de triancinolona, fosfato de dexametasona, flunisolido, budesonido, pivalato de toxícorol, etc; aminoácidos; anoréticos, tais como cloridrato de benzfetamina, cloridrato de clorfentermina, etc; antibióticos, tais como cloridrato de tetraciclina, tirotricina, cefalosporina, aminoglicósidos, estreptomicina, gentamicina, leucomicina, penicilina e derivados, eritromicina, etc; agentes antialérgicos; anticorpos, tais como anticorpos monoclonais ou policlonais contra doenças infecciosas; agentes anticolinérgicos, tais como atropina base, etc; agentes antidepressivos, tais como cloridrato de amitriptilina, cloridrato de imipramina, etc; antieméticos, tais como neurolépticos, por exemplo, metopimazina, anti-histamínicos, por exemplo, tienil



perizina ou antieméticos tendo um efeito regulador da motilidade intestinal, tais como domperidon; agentes antiepilépticos e antiespasmolíticos, tais como clonazepam, diazepam, nitrzepam, lorazepam, etc; agentes anti-histamínicos e histamínicos, tais como o cloridrato de difenidramina, maleato de clorofeniramina, clemastina, histamina, maleato de profempiridamina, maleato de clorprofempiridamina, cromoglicato de disódio, meclizina, etc; agentes anti-hipertensão, tais como o cloridrato de clonidina, etc; agentes anti-inflamatórios (enzimáticos), tais como quimiotripsina, bromelaína, seratiopeptidase, etc; agentes anti-inflamatórios (não esteróides), tais como acetaminofeno, aspirina, aminopirina, fenilbutazona, ácido mefenâmico, ibuprofeno, diclofenac de sódio, indometacina, colchicina, probenocid, etc; agentes anti-inflamatórios (esteróides), tais como hidrocortisona, prednisona, fluticasona, predonisolona, triamcinolona, acetonido de triamcinolona, dexametasona, betametasona, beclometasona, dipropionato de beclometasona, etc; agentes anti-neoplásicos, tais como actinomicina C, etc ; agentes anti-sépticos, tais como cloridrato de clorhexidrina, hexilresorcinol, cloreto de dequalínio, etacridina, etc ; agentes anti-tumorais; espectorantes anti-tosse (agentes antiasmáticos), tais como cromoglicato de sódio, fosfato de codeína, cloridrato de isoproterol, etc.; agentes antivirais e anti-cancro, tais como interferons (por exemplo, alfa-2 interferon para o tratamento de resfriados vulgares), benzoato de fenil-p-guanidino, enviroxima, etc.; agentes bloqueadores beta-adrenérgicos, tais como cloridrato de propanolol, etc.; factores sanguíneos, tais como o factor VII, factor VIII,

etc.; agentes que controlam o metabolismo ósseo, tais como vitamina D₃, vitamina D₃ activa, etc.; agentes brônco~~codilato~~res, tais como cloridrato de clenbuterol, mesilato de bitolterol, etc.; agentes cardiotônicos, tais como digitalis, digoxina, etc.; hormonas, fármacos e derivados reguladores cardiovasculares, tais como os antagonistas da bradiquina, péptido natriurético atrial e derivados, hidralazina, antagonis~~ta~~ da angiotensina II, nitroglicerina, nifedipina, dinitrato de isossorbido, propranolol, tosilato de clofilio, etc.; agentes quimioterapêuticos, tais como sulfatiazol, nitrofurazona, etc.; estimuladores do sistema nervoso central, tais como a lidocaína, cocaína, etc.; corticosteróides, tais como lacicortona, hidrocortisona, acetono~~ido~~ de fluocinolona, acetamido de triancinolona, etc.; fármacos de diagnóstico, tais como fenolsulfonftaleína, corante T-1824, corantes vitais, ferro cianeto de potássio, secretina, pentagastrina, ceruleína, etc.; agentes dopaminérgicos, tais como o mesilato de bromocriptina, etc.; enzimas, tais como o cloridrato de lisozima, dextranase, etc.; hormonas gastrintestinais e derivados, tais como secreti~~na~~, substância P, etc.; hormonas do hipotálamo e derivados, tais como LHRH e análogos (tais como nafarelina, buserelina, zolidex, etc.); encefalinas (DADLE, metcefamida, leucina encefalina), TRH (hormona de libertação de tirotropina), etc.; hipotensores; anestésicos locais, tais como benzocaína, etc.; substâncias para tratamento da enxaqueca, tais como a di-hidro ergotamina, ergometrina, ergotamina, pizotidina, etc.; narcóti~~cos~~; antagonistas e analgésicos, tais como buprenorfina, naloxona, etc.; hormonas pancreáticas e derivados, tais como insulina

(forma hexamérica/dimérica/monomérica), glucagon, etc.; parasimpatomiméticos, tais como a nicotina, metacolina, etc.; parassimpatolíticos, tais como escopolamina, atropina, ipratrópio, etc.; substâncias da doença de Parkinson, tais como a apomorfina, etc.; hormonas da glândula pituitária e derivados, tais como a hormona do crescimento (por exemplo, humana), vasopressina e análogos (DDAVP, lipressina), oxitocina e análogos, etc.; prostaglandinas, tais como PGA e derivados, PGE₁ e derivados, PGE₂ e derivados, PGF₁ e derivados, dinoprost trometanol, etc.; inibidores da protease, tais como citrato de aprotinina ou α_1 -antitripsina, etc.; sedativos, tais como alprazolam, bromazepam, brotizolam, camazepam, clordiazepóxido, clobazam, ácido clorazépico, clonazepam, clotiazepam, cloxazolam, delorazepam, diazepam, estazolam, loflasepato de etilo, fludiazepam, flunitrazepam, flurazepam, flutazolam, halazepam, haloxazolam, cetazolam, loprazolam, lorazepam, lorazepam, medazepam, midazolam, nimetazepam, nitrazepam, nordizepam, oxazepam, oxazolam, pinazepam, prazepam, temazepam, tetrazepam, tofisopam, triazolam, etc.; hormonas sexuais, tais como, etiniloestradiol, levonogestrel, FSH, LH, LTH, estradiol-17-beta, progesterona, noretindrona, testosterona, etc.; simpatomiméticos, tais como efedrina, epinefrina, fenilefrina, xilometazolina, tramazolina, dopamina, dobutamina, etc.; hormonas da glândula tiróide e derivados, tais como calcitoninas e suas modificações sintéticas, etc.; tranquilizantes, tais como alprazolam, bromazepam, brotizolam, camazepam, clordiazepóxido, clobazam, ácido clorazépico, clonazepam, clotiazepam, cloxazolam, delorazepam, diazepam, estazolam, loflazepato de etilo, fludiazepam, flunitrazepam, flurazepam, flutazolam, hala

zepam, haloxazolam, cetazolam, loprazolam, lorazepam, lormetazepam, medazepam, midazolam, nimetazepam, nitrazepam, nordiazepam, oxazepam, oxazolam, pinazepam, prazepam, temazepam, te trazepam, tofisopam, triazolam, etc.; vacinas, tais como vacinas da SIDA, vírus de influenza, vírus da para-influenza, sarampo, poliomielite, rinovírus tipo 13, vírus sinciciais respiratórios, etc.; vasoconstritores, tais como cloridrato de fenilefrina, cloridrato de tetrahidrozolina, nitrato de nafazolina, cloridrato de oximetazolina, cloridrato de tramazolina, etc.; vasodilatadores, tais como nitroglicerina, cloridrato de papaverina, substância P, VIP (péptido intestinal vasoactivo), etc.; vitaminas, tais como vitamina B₁₂, ácido fólico ou nicotinamida.

As composições da presente invenção, de acordo com um aspecto preferido desta, contêm uma substância com actividade biológica escolhida no grupo constituído por hormonas das cápsulas supra-renais, corticosteróides e seus derivados, aminoácidos, anoréticos, antibióticos, agentes antialérgicos, agentes anticolinérgicos, anti-depressores, antidotos, anti-epilepticos, anti-histamínicos e agentes histamínicos, anti-hipertensores, agentes anti-inflamatórios (enzimáticos, não esteróides, e esteróides), agentes anti-neoplásicos, anti-sépticos, agentes anti-tumorais, espectorantes anti-tússicos, (agentes anti-asmáticos), agentes anti-virais e anti-cancro, agentes bloqueadores beta-adrenérgicos, factores sanguíneos, agentes que controlam o metabolismo ósseo, broncodilatadores, cardiotónicos, hormonas, fármacos e derivados reguladores cardiovasculares, agentes quimioterapêuticos, estimulantes do sistema nervoso central, corti

cósteróides, fármacos para diagnóstico, agentes dopaminérgicos, enzimas, fibrinolíticos, antagonistas do GABA, hormonas gastrintestinais e derivados, antagonistas de glutamato, antagonistas de glicina, hormonas do hipotálamo e derivados hipotensores, anestésicos locais, substâncias para tratamento de enxaqueca, narcóticos, antagonistas e analgésicos, hormonas pancreáticas e derivados, parassimpatomiméticos, parassimpatolíticos, hormonas da glândula pituitária e derivados prostaglandinas, sedativos, hormonas sexuais, espasmolíticos, simpatomiméticos, hormonas da glândula tiróide e derivados, tranquilizantes, vacinas, vasoconstritores, vasodilatadores e vitaminas.

De acordo com outro aspecto da presente invenção a substância ou substâncias biologicamente activas são escolhidas entre os péptidos com actividade biológica que são digeridos no tracto gastrintestinal.

De acordo com um aspecto ainda mais preferido da presente invenção a substância biologicamente activa é escolhida no grupo constituído por factores de coagulação, tais como o factor VII, factor VIII, factor IX e derivados e seus análogos; agentes que controlam o metabolismo ósseo, tal como a vitamina D₃, a vitamina D₃ activa, a calcitonina e derivados e seus análogos, hormonas segregadas pelo hipotálamo, tais como LHRH ou análogos, por exemplo nafarelina, buserelina ou zolidex, encefalinas, tais como DADLE, metcefamida ou leucina encefalina e TRH e derivados e seus análogos; hormonas segregadas pelo pâncreas, tais como a insulina, o glucagon, derivados e seus análogos; hormonas segregadas pela glândula pituitária, tais como a hormona do crescimento, a vasopressina ou a oxitocina e

seus derivados e análogos, por exemplo DDAVP ou lipressina; hormonas sexuais, tais como etinilestradiol, levonorgestrol, FSH, LH, LTH, estradiol-17 β , progesterona, noretindrona ou testosterona e seus análogos e derivados; tranquilizantes, tais como alprazolam, bromazepam, brotizolam, camazepam, clordiazepóxido, clobazam, ácido clorazépico, clonazepam, clotiazepam, cloxazolam, delorazepam, diazepam, estazolam, loflazepato de etilo, fludiazepam, flunitrazepam, flurazepam, flutazolam, halazepam, haloxazolam, cetazolam, loprazolam, lorazepam, lormetazepam, medazepam, midazolam, nimetazepam, nitrazepam, nordiazepam, oxazepam, oxazolam, pinazepam, prazepam, temazepam, tetrazepam, tofisopam ou triazolam e seus derivados e análogos.

De acordo com outro aspecto mais preferido da presente invenção, a substância com actividade biológica é escolhida no grupo constituído por factores de coagulação, tais como o factor VII, factor VIII, factor IX e seus derivados e análogos; agentes controladores do metabolismo ósseo, tais como a calcitonina e seus derivados e análogos; hormonas segregadas pelo hipotálamo, tais como LHRH ou análogos, por exemplo, nafarelina, buserelina ou zolidex, encefalinas, tais como DADLE, metcefamida ou leucina encefalina, hormonas segregadas pelo pâncreas, tais como a insulina, ou glucagon e seus derivados e análogos; hormonas segregadas pela glândula pituitária, tais como a hormona do crescimento, vasopressina ou oxitocina e seus derivados e análogos, por exemplo DDAVP ou lipressina; hormonas sexuais, tais como FSH, LH ou LTH e seus derivados e

análogos.

A presente invenção é particularmente importante quando se administram substâncias activas que são péptidos com actividade biológica e que são digeridos no tracto gastrintestinal, tais como insulina, glucagon, hormona do crescimento ou factores do crescimento semelhantes a insulina ou seus derivados e análogos.

De acordo com um aspecto mais preferido da presente invenção a substância activa é constituída por uma hormona polipeptídica pancreática, tal como a insulina ou o glucagon ou um seu derivado ou análogo.

De acordo com outro aspecto preferido da presente invenção, a substância activa é escolhida entre agentes anti-epilépticos, espasmolíticos e tranquilizantes seleccionados no grupo das benzodiazepinas, tais como clonazepam, diazepam, flunitrazepam, triazolam, lorazepam, nitrazepam ou suas misturas.

A substância activa pode estar presente numa quantidade compreendida entre 0,0001% e 50% da composição total, de preferência numa quantidade compreendida entre 0,001% e 20%, por exemplo, como no caso das benzodiazepinas.

As preparações farmacêuticas da presente invenção podem ainda conter ácido nítrico e/ou nitrato numa concentração compreendida entre 0,0001% e 5%. Este componente pode actuar como um agente estabilizante das substâncias activas, tais como o clonazepam.

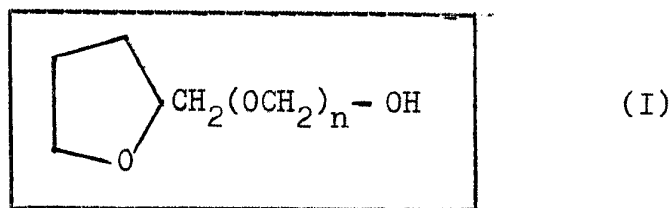
De acordo com outro aspecto da presente invenção as pre

parações farmacêuticas adicionalmente contêm um ou mais compostos escolhidos no grupo constituído por agentes tensioactivos promotores da absorção, polímeros absorventes de água, microsféras, óleos e loções, lipossomas, substâncias que inibem a degradação enzimática, álcoois, dissolventes orgânicos, água, agentes hidrófobos, agentes que controlam o pH, agentes conservantes e agentes controladores da pressão osmótica, ciclodextrinas, propulsores ou suas misturas.

De preferência os polímeros que absorvem a água são os polietilenoglicóis com um peso molecular médio compreendido entre 200 e 7500 ou propilenoglicol ou suas misturas.

De acordo com um aspecto preferido da presente invenção, as composições contêm mais de 50% (p/p) de polietilenoglicol com um peso molecular médio compreendido entre 200 e 1000 e/ou polietilenoglicol ou suas misturas.

A presente invenção também se refere a um método para tratamento de um mamífero com uma substância biologicamente activa que consiste em aplicar essa substância numa membrana mucosa de um mamífero a tratar, conjuntamente com uma ou mais substâncias escolhidas no grupo constituído por n-glicoforóis de fórmula geral,

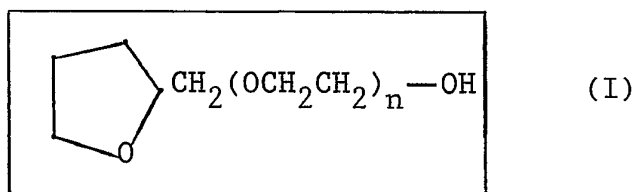


na qual n representa um número inteiro de 1 a 8 e n-etilenoglicóis representados pela fórmula geral



na qual p representa um número inteiro de 1 a 14.

De acordo com outro aspecto, a presente invenção refere-se à utilização de composições farmacêuticas contendo uma substância com actividade biológica e uma ou mais substâncias escolhidas no grupo constituído por n -glicofuróis representados pela fórmula geral,



na qual n representa um número inteiro de 1 a 8 e n -etilenoglicóis de fórmula geral,



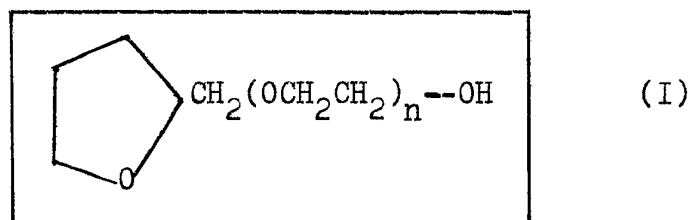
na qual p representa um número inteiro de 1 a 14 para aplicação numa membrana mucosa.

A membrana mucosa à qual se administram as preparações farmacêuticas da presente invenção pode ser uma qualquer de um animal mamífero a que se tem que administrar a substância com actividade biológica, por exemplo no nariz, vagina, olho, boca, tracto genital, pulmões, tracto gastrintestinal ou recto, de preferência a mucosa do nariz, boca ou vagina.

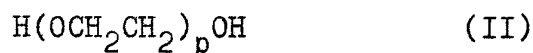
As composições farmacêuticas da presente invenção podem ser administradas sob a forma de pastilhas ou trociscos sublinguais ou de nebulizador ("spray") bucal ou nasal, sob a forma de solução, suspensão ou de um pó, eventualmente conjuntamente com vários reforçadores de absorção ou mais preferencialmente sob a forma de uma solução ligeiramente viscosa que é bioadesiva ou, eventualmente, sob a forma de um supositório ou óvulo ("vagitory").

De acordo com um aspecto preferido da presente invenção, a aplicação é na mucosa nasal.

A presente invenção refere-se, de acordo ainda com outro aspecto, a um método para a preparação de composições farmacêuticas para aplicação numa membrana mucosa de um mamífero, de uma substância com actividade biológica, constituída por uma ou mais substâncias escolhidas entre n-glicofurois de fórmula geral,



na qual n representa um número inteiro de 1 a 8 e n-etilenoglicóis de fórmula geral

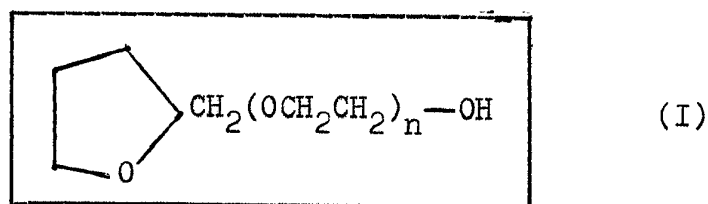


na qual p representa um número inteiro de 1 a 14, sendo a substância com actividade biológica dissolvida num veículo preparado contendo uma parte ou o total dos restantes com

ponentes da preparação farmacêutica. O método pode aplicar-se utilizando ultra-sons e/ou a uma temperatura elevada. É preferível proceder à dissolução durante o aquecimento a uma temperatura compreendida entre 30 e 100°C, tomando em consideração a sensibilidade à temperatura da substância activa. Para substâncias activas muito sensíveis, tais como a hormona de crescimento humana, apenas é aconselhada uma agitação moderada.

De acordo com outro aspecto da presente invenção, proporciona-se um sistema de libertação controlada para administração intranasal, contendo veículos substancialmente não aquosos; os quais são biocompatíveis com o muco e são capazes de dissolver, em pequenos volumes, as quantidades requeridas de substâncias biologicamente activas.

De acordo com um outro aspecto, a presente invenção refere-se à utilização de uma ou mais substâncias escolhidas entre os n-glicofurois de fórmula geral,



na qual n representa um número inteiro de 1 a 8 e os n-etilenoglicóis de fórmula geral,



na qual p representa um número inteiro de 1 a 14, para a preparação de composições farmacêuticas, para aplicação,

- . numa membrana mucosa de um mamífero, de uma substância biologicamente activa.

Neste aspecto, a presente invenção refere-se, de preferência, à preparação de composições farmacêuticas para administração sistémica através da mucosa nasal, bucal ou vaginal, mais vantajosamente através da mucosa nasal.

De acordo com um aspecto desta invenção os n-glicofurois de fórmula geral I são considerados como um veículo aceitável sob o ponto de vista farmacêutico, especialmente um veículo nasal aceitável sob o ponto de vista farmacêutico. De acordo com outro aspecto da presente invenção, os n-glicofurois de fórmula geral I são considerados como facilitando o reforço da absorção duma substância com actividade biológica através de uma membrana mucosa de um mamífero, especialmente através da mucosa nasal.

A presente invenção torna possível normalizar, por exemplo, o nível sanguíneo da glucose em indivíduos que sofrem de anomalias no seu metabolismo dos açúcares, tais como hipoglicémia ou hiperglicémia, mediante administração de glucagon ou de insulina ou de um seu análogo ou derivado, respectivamente, de um modo muito fácil e conveniente.

Além disso, esta invenção permite a administração muito adequada de agentes que controlam o metabolismo dos ossos, tais como a vitamina D₃ ou a calcitonina e seus derivados e análogos; as hormonas segregadas pelo hipotálamo, tais como LHRH, tais como nefarelina, buserelina ou zolidex e seus derivados e análogos; hormonas que regulam o desenvolvimento ou factores de desenvolvimento mitogénico, tais como somatropina, IGF-1,

IGF-2, FGF, PDGF, TGF, EGF e seus derivados e análogos; inibidores da protease, tais como aprotinina, citrato ou derivados de α_1 -antitripsina e seus análogos e citocinas, tais como a IL-1 e IL-2, com o objectivo de normalizar o nível sanguíneo no caso de uma deficiência.

É especialmente preferido para uso como veículo nas composições de acordo com a presente invenção o glicofurol 75 (GF) que se refere a dissolventes comercialmente disponíveis de polímeros de fórmula geral I, anteriormente referida, na qual n representa principalmente 1 e 2 (Chemical Abstract Registration Nº 9004-76-6). O glicofurol 75 é um líquido incolor miscível com a água, álcoois, tais como metanol, etanol, n-propanol, glicerol e vários óleos em todas as proporções e tem um ponto de ebulição de cerca de 155°C. O glicofurol é referido como provocando irritação quando utilizado em composições para administração parentérica, sob forma não diluída, tal como referem Spiegel e Nosewothy (1963). Tem sido referido como não tóxico e não irritante quando diluído na água (Spiegelberg et al., 1956).

Os n-etilenoglicóis utilizados de acordo com a presente invenção podem ser, por exemplo, monoetilenoglicol (1EG), dietilenoglicol (2EG), trietilenoglicol (3EG), tetraetilenoglicol (4EG), pentaetilenoglicol (5EG), hexaetilenoglicol (6EG), heptaetilenoglicol (7EG), octaetilenoglicol (8EG), nonaetilenoglicol (9EG) decaetilenoglicol (10EG), undecaetilenoglicol (11EG), dodecaetilenoglicol (12EG), tridecaetilenoglicol (13EG) e tetradecaetilenoglicol (14EG). Os etilenoglicóis podem ser aplicados sob a forma de compostos individuais ou em

mistura de dois ou mais n-etilenoglicóis, por exemplo, produtos comerciais, tais como o polietilenoglicol 200 (PEG 200) ou polietilenoglicol 400 (PEG 400).

De 1EG a 14EG são líquidos incolores miscíveis com a água ou com os álcoois em todas as proporções. PEG 200 é uma mistura comercializada de etilenoglicóis com peso molecular médio de cerca de 200. A composição está indicada no Quadro 1..

Quadro 1: Composição de PEG 200

Monoetilenoglicol	0,1 %
Dietilenoglicol	3,4 %
Trietilenoglicol	21,2 %
Tetraetilenoglicol	31,2 %
Pentaetilenoglicol	24,4 %
Hexaetilenoglicol	14,0 %
Heptaetilenoglicol	5,4 %
Octaetilenoglicol	<u>0,3 %</u>
	100,0 %

Os n-etilenoglicóis e glicofurois estão comercializados com qualidades várias. São especialmente preferidas as qualidades de elevada pureza, tais como 4EG de Fluka-Chemie AG (Buchs, Suíça, Artº. Nº. 86660, 1990), abreviadamente 4EGf.

O sistema de libertação de acordo com a presente invenção pode ser optimizado, por exemplo, relativamente à bioadesão, poder de dispersão ou viscosidade. Por exemplo, GF, numa concentração apenas de 5 % tem um efeito surpreendente

positivo no poder de dispersão de, por exemplo, 4 EGF mediante redução da viscosidade. Além disso, a adição de 5 % de GF é capaz de diminuir a temperatura de solidificação desde cerca de -10°C até $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Este facto tem importância quando a composição deve ser veiculada em indivíduos ou transportada para o exterior, pronta para utilização.

As composições farmacêuticas desta invenção podem ser utilizadas para tratar animais, tais como animais domésticos ou animais de estimação ou, de preferência, seres humanos. Uma vantagem especial na utilização do sistema de veículo citada anteriormente é que, por exemplo, substâncias altamente lipofílicas, tais como as benzodiazepinas assim como substâncias solúveis na água, por exemplo, péptidos e proteínas, tais como as hormonas pancreáticas, podem ser solubilizadas em dose com importância clínica para seres humanos em apenas, por exemplo, 25 a 300 μl do veículo. Nas soluções aquosas as doses clinicamente relevantes de diazepam e clonazepam deverão ser alternativamente dissolvidas em cerca de 5000 ml e >10 ml, respectivamente.

O sistema veicular de acordo com a presente invenção pode ser utilizado em associação com vários co-dissolventes, tais como óleo vegetal, como, por exemplo, Miglyol[®] 840 (Dynamit Nobel Chemie, Troisdorf, Alemanha) ou, eventualmente, óleo de rícino hidrogenado ou etoxilado, que surpreendentemente aumenta a possibilidade de obtenção de composições de libertação controlada, tais como composições de diazepam, que evitam os picos das concentrações plasmáticas.

As composições de acordo com a presente invenção podem

conter ainda um ou mais excipientes farmacêuticos, tais como agentes tensioactivos e promotores da absorção exibindo um equilíbrio hidrófilo-lipófilo compreendido entre cerca de 6 e 26, e agentes tensioactivos iónicos ou não iónicos incluindo éteres de álcoois de polioxietileno, sais biliares e seus derivados, ácido fusídico e seus derivados, ácido oleico, lecitina, lisolecitinas ou Twen 20 a twen 85; os polímeros que absorvem água, tais como polietilenoglicol 200 até 7500, polivinilpirrolidona, propilenoglicol ou ácido poliacrílico, gelatina, celulose e derivados; substâncias que inibem a degradação enzimática, tais como o citrato ou a aprotinina; álcoois, tais como etanol, glicerol ou álcool benzílico; dissolventes orgânicos, tais como acetato de etilo ou álcool benzílico; agentes hidrófobos, tais como óleos vegetais, por exemplo, óleo de soja, óleo de amendoim, óleo de coco, óleo de milho, azeite, óleo de girassol, óleo de rícino, Miglyol[®] 810/812/840 ou suas misturas; agentes que controlam o pH, tais como ácido nítrico, ácido fosfórico ou ácido acético, citrato; agentes conservantes e agentes que controlam a pressão osmótica, tais como glicerol, cloreto de sódio, paraoxibenzoato de metilo ou ácido benzóico; composições em pó, tais como alfa-, beta- e gama-ciclodextrinas, celulose e derivados; microsferas, lipossomas e composições em emulsão, tais como amido, albuminas, gelatina, ou lecitinas ou lisolecitinas; composições microencapsuladas; agentes propulsores tais como o butano; água. O uso de álcoois ou agentes propulsores não é obrigatório nas composições de acordo com a presente invenção.

A presente invenção é melhor ilustrada através dos de

senhos em anexo, nos quais:

Fig. 1 mostra um gráfico da concentração plasmática média de clonazepam após administração endovenosa e administração intranasal de uma preparação de acordo com a presente invenção;

Fig. 2 mostra um diagrama de blocos do tempo médio de resposta em função do teor de glicofurol de uma preparação de acordo com a presente invenção;

Fig. 3 mostra a representação gráfica do nível de glucose no sangue após a administração de insulina, de acordo com esta invenção;

Fig. 4 apresenta uma representação gráfica do nível de glucose no sangue após administração de glucagon, de acordo com a presente invenção;

Fig. 5 mostra a representação gráfica da concentração de clonazepam no plasma após administração de uma preparação contendo vários componentes etilenoglicóis;

Fig. 6 mostra a representação gráfica do nível plasmático médio do diazepam após administração de preparações contendo glicofurol e vários co-dissolventes;

Fig. 7 é uma representação gráfica do efeito de vários teores de glicofurol em preparações de acordo com a presente invenção;

Fig. 8 é uma representação gráfica comparando o nível plasmático de flunitrazepam após administração endovenosa e após administração intranasal de acordo com a presente invenção;

Fig. 9 é uma representação gráfica comparando o ní

vel plasmático de clonazepam após a administração endovenosa e após a administração intranasal de acordo com a presente invenção;

Fig. 10 representa um diagrama que mostra a estabilidade de clonazepam em diversos veículos;

Fig. 11 é uma representação gráfica comparando as concentrações plasmáticas de estrogénio após administração en dovenosa e após administração intranasal de acordo com a presente invenção; e

Fig. 12 é uma representação gráfica comparando as concentrações plasmáticas de estrona após administração endovenosa e após administração intranasal de estrogénio de acordo com a presente invenção.

A presente invenção é explicada com mais pormenor através dos Exemplos que são considerados apenas como esclarecedores desta invenção e, não devem ser entendidos como limites do seu âmbito, tal como é indicado nas reivindicações anexas.

Exemplo 1

Estudo da toxicidade e aceitabilidade dos veículos de acordo com a presente invenção

Numa avaliação toxicológica do veículo deverá considerar-se o efeito local assim como o efeito sistémico após absorção oral. GF e PEG 400 têm sido utilizados como excipientes para composições injectáveis em que a quantidade administrada é superior a 300 μ l por dose, o que excede a quantidade

administrada por via intranasal utilizando as composições de acordo com a presente invenção.

Os resultados relacionados com a toxicidade local para nEG e GF após administração intranasal não estão disponíveis na bibliografia. Portanto, os testes foram realizados para avaliar a toxicidade local de 30 a 100 μ l para a mucosa nasal de um coelho. Nestes testes, dissolveram-se também benzodiazepinas em diversos sistemas de dissolventes de acordo com a presente invenção e aplicaram-se durante 14 dias 30 μ l da composição na mucosa nasal de coelhos. O efeito das composições administradas deste modo foi então avaliado em cinco experiências que incluíram a realização de um controle, tal como se indica no Quadro 2:

Quadro 2

Avaliação da toxicidade local de composições de benzodiazepina de acordo com a presente invenção.

Nº de animais/sexo	Narina esquerda		
	Grupo	Material de ensaio	Sessão/dia
1 m 2 3 4 f 5 6	1 contrôlo	30 µl cloreto de sódio	1
7 m 8 9 10 f 11 12	2	30 µl D em PEG	1
13 m 14 15 16 f 17 18	3	30 µl L em PEG	1
19 m 20 21 22 f 23 24	4	30 µl F em PEG	1
25 m 26 27 28 f 29 30	5	30 µl F em PEG + GF	1

Abreviaturas:

D = Diazepam 3 %; L = Lorazepam 5 %; F = Flunitrazepam 1 %;
 PEG = Polietilenoglicol 200; GF = Glicofurol 75;
 PEG + GF = 70 % PEG + 30 % GF.

A = Contrôlo; PEG = Polietilenoglicol 200; GF = Glicofurol 75
 PEG + GF = 70 % PEG + 30 % GF.

Examinou-se a cavidade nasal histologicamente, apenas se tendo detectado modificações inflamatórias moderadas após administração das composições. Não se encontrou claramente uma resposta relacionada com a dose para doses crescentes nem diferença entre 100 % de PEG 200 e 70 % de PEG 200 + 30 % de glicofurol 75. Concluiu-se que os veículos de acordo com a presente invenção apenas originam efeito toxicológicos reversíveis moderados.

A tolerância para os dois veículos em teste contendo tetraetilenoglicol (4EGf) e eventualmente 5 % de glicofurol (GF) foi estudada após a aplicação intranasal em 9 voluntários saudáveis e comparada, após um protocolo de três vias cruzado em dupla ocultação com o veículo de um produto comercializado, Locilan[®] (Astra-Syntex Scandinavia AB, Södertälje, Suécia). Como controle utilizou-se uma solução de cloreto de sódio a 0,9 %.

Esta solução e o veículo do produto comercializado foram muito bem tolerados. Os dois veículos contendo tetraetilenoglicol causaram sensação de queimadura ou ardor no nariz e o nariz a pingar, de gravidade moderada, imediatamente após a aplicação. Os sintomas foram de curta duração, sendo apenas de gravidade moderada 10 minutos após a aplicação. Não se observaram sintomas clínicos numa nasoscopia de 30 minutos após a aplicação.

Quando interrogados todos os indivíduos afirmaram que

os veículos contendo tetraetilenoglicol e eventualmente 5 % de glicofurool eram aceitáveis para a administração de substâncias com actividade biológica essenciais, para serem usadas ocasionalmente e que preferiam a aplicação intranasal em um desses veículos preferencialmente à administração endovenosa.

Os pormenores da experiência e os resultados apresentam-se a seguir.

Estudo da aceitabilidade de veículos de acordo com a presente invenção em seres humanos.

Indivíduos

Nove voluntários saudáveis foram incluídos no ensaio. Todos os indivíduos eram saudáveis sem qualquer doença cardíaca, hepática ou nefrologia.

Nenhum dos indivíduos sofria de doenças respiratórias ou pulmonares ou tinha tido qualquer resfriado nas últimas duas semanas. Os sinais vitais (tensão arterial e pulso) estavam nos valores normais para todos os indivíduos. Realizaram-se testes convencionais para a bioquímica e hematologia nas duas semanas anteriores ao estudo. Apenas dois dos indivíduos não apresentavam todos os requisitos da química clínica entre os limites normais. Nos indivíduos N^{os}. 4 e 5 a alanina aminotransferase (SGPT) estava acima do limite normal superior mas considerou-se isso sem significado clínico.

Procedimento

O estudo foi um teste em dupla ocultação de três veícu

32

los e um controle (solução de cloreto de sódio) e consistiu em três sessões idênticas com intervalos de 24 horas entre cada uma das sessões.

Durante cada sessão foi administrado um veículo de controle na narina direita 5 minutos antes da aplicação de um veículo em ensaio na narina esquerda. Interrogaram-se os indivíduos para se registrar em questionário qualquer dor ou irritação observadas nos minutos 0 - 1 após a aplicação e 10 e 30 minutos após a aplicação do veículo em ensaio. Quando se detectou qualquer sintoma o indivíduo foi solicitado a registrar a gravidade e a caracterizar os sintomas.

Antes da aplicação de veículos e 30 minutos após a aplicação do veículo em ensaio a membrana mucosa de ambas as narinas foi inspecionada por nasoscopia pelo técnico.

Veículos

Ensaïaram-se quatro veículos, um constituído por solução de cloreto de sódio que se utilizou como controle negativo. Os outros três veículos foram dois veículos de ensaio de acordo com a presente invenção (veículos A e B) e um "controle positivo" constituído por um veículo de um produto comercializado muito bem tolerado, Locilan® (Nielson et al., 1989)

Dispositivos para aplicação

Utilizou-se uma bomba Pfeiffer (modelo 6917.5902/3790.0129) que fornece 50 µl quando actuada para aplicação.

Dose

Os veículos foram aplicados mediante colocação da unidade de nebulização ("spray") da bomba Pfeiffer na narina esquerda (ou na direita) e actuação da bomba duas vezes, sendo a dose total de 100 µl.

Inspecção clínica

A inspecção clínica do tecido do nariz não apresentou qualquer efeito clínico significativo proveniente dos veículos aplicados. Em três dos indivíduos observou-se irritação local de grau moderado 30 minutos após a aplicação dos veículos. Os veículos aplicados foram solução de cloreto de sódio num indivíduo e o veículo de ensaio B nos outros dois indivíduos.

Tolerância referida pelos indivíduos (Quadros 3-5)

Nos Quadros 3, 4 e 5, respectivamente, está indicada a gravidade dos sintomas de irritação do nariz 0 - 1 minuto, 10 minutos e 30 minutos após a aplicação do veículo em ensaio.

Os indivíduos concluíram que os veículos de tetraetilenoglicol contendo eventualmente glicofurol foram menos bem tolerados do que a solução de cloreto de sódio do veículo em Locilan[®]. Contudo, os sintomas causados por veículos contendo tetraetilenoglicol eram de duração relativamente curta e considerados aceitáveis, se as substâncias com actividade biológica fossem essenciais para a saúde do indivíduo.

34

Quadro 3

Tolerância 0 - 1 minuto após a aplicação como referido nos questionários pelos indivíduos: Nº de indivíduos com sintomas e sua gravidade.

Gravidade da irritação	Contrôlo (narina direita)	Veículo		
		A	B	C
Ausência de irritação	25	1	0	6
Moderada aceitável	2	5	3	3
Moderadamente grave	0	3	6	0
Inaceitável	0	0	0	0

A = 4EGf - veículo

B = GF a 5 % em 4EGf

C = veículo Locilan[®]

Contrôlo = solução de cloreto de sódio (narina direita).

Quadro 4

Tolerância 10 minutos após a aplicação, como registado pelos indivíduos nos questionários: Nº de indivíduos com sintomas e sua gravidade.

Gravidade da irritação	Contrôlo (narina direita)	Veículo		
		A	B	C
Ausência de irritação	27	5	5	7
Moderada aceitável	0	4	4	2
Moderadamente grave	0	0	0	0
Inaceitável	0	0	0	0

A = 4EGf - veículo

B = GF a 5 % em 4EGf

C = veículo Locilan [®]

Contrôlo = solução de cloreto de sódio (narina direita)

Quadro 5

Tolerância 30 minutos após a aplicação como registado pelos indivíduos nos questionários: Nº de indivíduos com sintomas e sua gravidade.

Gravidade da irritação	Contrôlo (narina direita)	Veículo		
		A	B	C
Ausência de irritação	27	8	7	8
Moderada aceitável	0	1	2	1
Moderadamente grave	0	0	0	0
Inaceitável	0	0	0	0

A = 4EGf - veículo

B = GF a 5 % em 4EGf

C = veículo Locilan^(R)

Contrôlo = solução de cloreto de sódio (narina direita).

Veículo A

Veículo - Tetraetilenoglicol

I - Tetraetilenoglicol puríssimo p. a.	25 ml
Ácido nítrico concentrado p. a.	1 gota
II - Tetraetilenoglicol puríssimo p. a.	25 ml
Solução I (aproximadamente 30 gotas) ad pH	3,8

A mistura I foi utilizada para ajustar o pH da mistura II medido por um eléctrodo de pH para líquidos viscosos (rádiometer GK 2711). Foram incluídos 2 a 10 ml do veículo II

27

(veículo A) num multidosador Pfeiffer (Pfeiffer Zerstäuber; 6917.5902/3790.0129).

Veículo B

Glicofurol a 5 % em veículo de tetraetilenoglicol

I - Tetraetilenoglicol puríssimo p. a.	25 ml
Ácido nítrico concentrado p. a.	1 gota
II - Tetraetilenoglicol puríssimo p. a.	25 ml
Solução I (aproximadamente 30 gotas) ad pH	3,8
III - Solução II	23,75 ml
Glicofurol 75 puríssimo	1,25 ml

Utilizou-se a mistura I para ajustar o pH da mistura II com o auxílio de um eléctrodo de pH para líquidos viscosos (Radiometer GK 2711). Em seguida, preparou-se a mistura III (veículo B). Introduziram-se 2 a 10 ml do veículo num multidosador Pfeiffer (Pfeiffer Zerstäuber; 6917.5902/3790.0129).

Veículo C

Veículo Locilan[®]

Propilenoglicol, pH. Eur. III	2 g
Polietilenoglicol 400, Ph. Nord. 63 II	20 g
Tween 20 Ph. Eur. III	2,5 g
Cloreto de benzalcónio, DLS 86	70 mg
EDTA dissódico, Ph. Eur. 2ª. edição 1983	10 mg
Hidroxitolueno butilado, Ph Nord. 63 II, Add	10 mg
Ácido cítrico, Ph. Eur. III, Supl 77	5 mg
Citrato de sódio, 2H ₂ O, Ph. Eur. III	7,65 mg
Sorbitol DAK 63	2,86 g
Água purificada, Ph. Eur. 2ª. ed. 1981 ad	100 g

Exemplo 2

Dissolveram-se 10 mg de clonazepam em 2 ml de veículo B (Exemplo 1) utilizando ultra-sons para obter uma concentração clonazepam de 5 mg/ml. Administraram-se 50 µl desta preparação em cada uma das cavidades nasais de coelhos brancos machos da Nova Zelândia, mantiveram-se em posição supina durante 1 minuto após a aplicação. Utilizou-se uma pipeta de Eppendorph para esta aplicação. Retiraram-se amostras de sangue da veia marginal da orelha aos 0, 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos e determinaram-se por HPLC as concentrações em clonazepam.

A Figura 1 apresenta a concentração de clonazepam plasmática média obtida após a administração. A figura também representa a concentração plasmática após injeção endovenosa na veia marginal da orelha da mesma dose (0,5 mg) de clonazepam sob a forma de Rivotril®^(R), injectada durante 1/2 minuto. A figura demonstra que a concentração plasmática após aplicação intranasal é aproximadamente a mesma ou mais alta, a cerca de 2 minutos, que a obtida por injeção endovenosa.

Exemplo 3

Resposta farmacodinâmica reforçada por glicofurol

A resposta farmacodinâmica foi avaliada em coelhos brancos da Nova Zelândia após aplicação de 50 µl de 2,5 mg de clonazepam/ml de veículo em cada narina, enquanto estavam na posição de sentados. O veículo era constituído por 0, 10, 20, 30,

70 e 100 % de glicofurol 75 (Roche, lote Nº 706127) adicionado a tetraetilenoglicol (Merck, art. 808619). Dissolveu-se o clonazepam por ultra-sons. A Figura 2 apresenta o tempo médio de resposta (o coelho pode repousar numa posição de deitado com as suas patas traseiras para um dos lados). Os valores numéricos no topo das barras indicam a quantidade de animais com reacção em 4 animais testados. As ausências de respostas durante 10 minutos são consideradas como 10 minutos no valor médio. Para a administração intranasal de clonazepam, o glicofurol a cerca de 10 % em tetraetilenoglicol (4EGm) obteve uma resposta óptima enquanto o glicofurol a 30 % obteve uma resposta mínima. Observou-se o mesmo comportamento para glicofurol a 30 % em tetraetilenoglicol (4EGf).

Exemplo 4

Aplicou-se 0,33 mg de insulina humana isenta de zinco (monomérica) em 50 µl de tampão de fosfato 12,5 mM, pH 7,4, contendo 5 % de glicofurol 75, em uma narina de 5 coelhos brancos da Nova Zelândia, na posição de sentados, com o peso aproximado de 3 quilos. Recolheram-se amostras de sangue de 50 µl da veia marginal da orelha após 0, 15, 30, 60 e 120 minutos e determinou-se o nível da glicémia.

A Figura 3 apresenta a glicémia média sob a forma de percentagem do valor inicial para a composição e para o controle constituído por solução cloreto de sódio a 0,9 %. Administraram-se 100 µl da mesma composição mas sem insulina na cavidade nasal de voluntários saudáveis.

Esta composição não se distinguiu do cloreto de sódio a

0,9 % no que se refere à irritação local.

Exemplo 5

Aplicaram-se em ambas as narinas de 5 coelhos brancos da Nova Zelândia hipoglicêmicos, na posição de sentados, com o peso aproximado de 3 kg, 50 µl em cada uma das narinas, de uma solução de 4 mg de glucagon humano em 100 µl de tampão de fosfato, de pH 4, contendo 5 % de glicofurol. A composição foi preparada por dissolução do glucagon em tampão de fosfato 7 mM, de pH 2,5, com ajustamento do pH para 4 com hidróxido de sódio 0,1 N e finalmente adição de 5 % de glicofurol 75. Provocou-se a hipoglicemia nos coelhos por injeção subcutânea de 83 µg de insulina, 1 hora antes da experiência. Recolheram-se continuamente amostras de sangue na veia marginal da orelha para determinação da glicemia.

A Figura 4 apresenta a glicemia média sob a forma de percentagem do valor inicial após a aplicação intranasal de glucagon.

Exemplo 6

Contrôlo do valor máximo, farmacocinética

Dissolveram-se 10 mg de clonazepam em 2 ml dos veículos seguintes: 1) tetraetilenoglicol (4EGf); 2) PEG 200; e 3) tetraetilenoglicol (4EGm) (MERCK-Schuchardt) utilizando ultra-sons. Administraram-se 50 µl desta preparação em cada uma das cavidades nasais de coelhos brancos da Nova Zelândia, na posição de sentados, por meio de uma pipeta de Eppendorph.

41

Obtiveram-se amostras de sangue através da veia marginal da orelha nos intervalos de tempo seguintes: 0, 2, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos e determinaram-se por HPLC as concentrações em clonazepam.

A Figura 5 apresenta a concentração plasmática média de clonazepam obtida após a administração intranasal. Após cerca de 2 minutos a concentração plasmática é superior para composições que contêm 4EGf do que para as que contêm PEG 200 e 4EGm.

Exemplo 7

Contrôlo do valor máximo, farmacocinética

Prepararam-se 3 mg de diazepam em 100 μ l de veículo e aplicaram-se nos coelhos de forma análoga à descrita no Exemplo 6. Utilizaram-se os veículos seguintes: 1) glicofurol 75 (GF); 2) Miglyol 840 + GF (7+3) e 3) óleo vegetal + GF (7+3). Obtiveram-se amostras de sangue na veia marginal da orelha após os intervalos de: 0, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos e determinaram-se as concentrações de diazepam respectivas, por HPLC.

A Figura 6 apresenta as concentrações plasmáticas médias de diazepam obtidas após a administração intranasal. Pode ser controlada uma concentração plasmática máxima inicial dependente de GF/veículo oleoso utilizado. A concentração plasmática para a composição com GF aos 5 minutos é cerca de 55 % da proveniente da injeção endovenosa de 3 mg de diazepam, sob a forma de Stesolid[®] (Dumex A/S, Dinamarca).

Exem-

Exemplo 8

Contrôlo do valor máximo, acção de GF como um reforçador

Preparou-se 0,5 mg de clonazepam em 100 µl de veículo e aplicou-se em coelhos de um modo análogo ao descrito no Exemplo 6. Utilizaram-se os veículos seguintes: 1) tetraetileno glicol (Merck) (4EGm); 2) glicofurol 75 a 2 % (GF) em 4EGm; 3) GF a 5 % em 4EGm; 4) GF a 10 % em 4EGm; 5) GF a 30 % em 4EGm e 6) GF. Obtiveram-se amostras de sangue na veia marginal da orelha após os intervalos seguintes: 0, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos e determinaram-se por HPLC as concentrações de clonazepam

A Figura 7 apresenta as concentrações plasmáticas médias do clonazepam obtidas após a administração intranasal. Pôde controlar-se uma concentração plasmática máxima inicial dependendo da relação GF/4EGm na composição.

Exemplo 9

Preparou-se 0,5 mg de flunitrazepam em 100 µl de veículo e aplicou-se em coelhos de modo análogo ao descrito no Exemplo 6. Utilizou-se o veículo seguinte: polietilenoglicol 200 (Merck art. 807483). Recolheram-se amostras de sangue na veia marginal da orelha após os intervalos seguintes: 0, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos e determinaram-se por HPLC as concentrações de flunitrazepam. A Figura 8 apresenta as concentrações plasmáticas médias de flunitrazepam obtidas após administrações intranasal e endovenosa de 0,5 mg de flunitrazepam (Rohypnol[®], Roche).

Exemplo 10

Prepararam-se 4 mg de midazolam em 100 μ l de veículo e aplicaram-se nos coelhos de um modo análogo ao descrito no Exemplo 6. Utilizou-se o veículo seguinte: polietilenoglicol 200 (Merck, art. 807483). Obtiveram-se as amostras de sangue na veia marginal da orelha após os intervalos de 0, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos e determinou-se a concentração de midazolam, por HPLC.

A Figura 9 apresenta as concentrações plasmáticas médias de midazolam obtidas após administração intranasal e endovenosa (Dormicum [®]; Roche) de 4 mg de midazolam.

Exemplo 11

Estudos de estabilidade

Numa tentativa para otimizar a estabilidade de clonazepam em veículos de acordo com a presente invenção, realizaram-se estudos acelerados. Estudou-se a estabilidade de clonazepam que permaneceu durante um período de um mês às temperaturas de 25° e 60°C, considerando-se uma recolha de cerca de 90 % ou mais à temperatura de 60°C como muito satisfatória.

Prepararam-se as composições seguintes, contendo 5 mg/ml de clonazepam excepto a composição 1) que continha 20 mg/ml: 1) e 2) em 4 EGf; 3) como 2) com um pH de 3,5 obtido pela adição de ácido fosfórico; 4) como 2) ajustado para pH 3,5 com ácido cítrico; 5) como 2) adicionado com 9 % de etanol; 6) como 2) corrigido para pH 3,5 com ácido azótico (inferior a 0,01 %);

7) como 2) adicionado com 1 % de água; 8) propilenoglicol (PG); 9) como 8) com um pH corrigido para 3,8 com 0,04 % de ácido acético; 10) como 2) adicionado com 0,4 % de ácido acético; 11) 4EGf + 5 % GF adicionado com 0,4 % de ácido acético, (pH cerca de 6); 12) como 11) adicionado com ácido azótico até pH 2; 13) como 11) adicionado com 3 % de ácido benzílico; 14) como 10) adicionado com 16 % de etanol e 3 % de álcool benzílico; 15) 4EGf + 5 % de GF com um pH de 3,5 corrigido com ácido nítrico (inferior a 0,01 %); 16) como 15) adicionado com 0,04 % de nitrato de sódio; 17) como 15) adicionado com 5 % de etanol; 18) 4EGf + 5 % de GF ajustado para pH 4,2 com ácido cítrico (0,1 %); 19) como 15) adicionado com 2 % de álcool benzílico; 20) 4EGf + 5 % de GF adicionado com nitrato de sódio a 0,04 %.

Após 2 e 4 semanas recolheram-se amostras de 100 µl dos contentores e analisaram-se quantitativamente por HPLC. Calculou-se a concentração da amostra (e recuperação) com base na altura do pico em relação a um padrão externo de clonazepam.

Como se observa no Quadro 7, apenas o ácido azótico, nitrato, etanol e o álcool benzílico aumentaram a estabilidade. O teor de água em 4EGf, GF e PG foi cerca de 0,05 %. Surpreendentemente a estabilidade em, por exemplo, 4EGf não diminuiu pela adição de 1 % de água. Além disso, a estabilidade a 25°C foi igual à das composições conservadas em ampolas (sob atmosfera de azoto) e em uma bomba Pfeiffer de 10 ml (mod. 6917.5902-3790.0129).

A Figura 10 é um esquema da estabilidade de clonazepam nos diversos veículos.

15

Quadro 7

ESTABILIDADE DE CLONAZEPAM ÀS TEMPERATURAS DE 25°C e 60°C EM DIVERSOS VEÍCULOS. PERCENTAGEM RECUPERADA APÓS 2 E 4 SEMANAS

Nº da composição	2 semanas			4 semanas		
	Amp.(-ar) recipiente de "spray"			Amp.(-ar) recipiente de "spray"		
	25°C	60°C	25°C	25°C	60°C	25°C
1. 4EGf 20 mg/ml	98	91	100	82	73	87
2. 4EGf 5 mg/ml	98	82	96	83	61	84
3. 4EGf pH 3,5 (fosfato)	98	79	100	84	62	85
4. 4EGf pH 3,5 (ácido oxálico)	95	43	95	81	18	82
5. 4EGf (9 % de etanol)	100	90	99	85	71	90
6. 4EGf, pH 3,8 (ácido nítrico)	98	88	97	95	87	95
7. 4EGf, (1 % de água)	94	83	94	89	71	94
8. PG	96	69	99	96	56	92
9. PG, pH 3,8 (ácido acético)	100	99	103	93	95	97
10. 4EGf (0,4 % de ácido acético)	102	84	102	99	67	102

Concentrações: composição Nº 1 = ca. 20 mg C/ml

composição Nº. 2-10 = ca 5 mg C/ml.

...

Quadro 7 (Continuação)

ESTABILIDADE DE CLONAZEPAM ÀS TEMPERATURAS DE 25°C E 60°C EM
DIVERSOS VEÍCULOS. PERCENTAGEM RECUPERADA APÓS 2 E 4 SEMANS

Nº da composição	2 semanas			4 semanas		
	Amp.(-ar) recipiente de "spray"			Amp.(-ar) recipiente de "spray"		
	25°C	60°C	25°C	25°C	60°C	25°C
11. 4EGf + 5 % GF Ácido acético 0,4 %	101	80	100	98	63	99
12. = Nº 11, pH 2 (ácido nítrico)	98	86	sem dados	97	81	sem dados
13. = Nº 11 + 3 % álcool benzílico	103	85	102	99	76	96
14. = Nº 10 + 16 % etanol + 3 % álcool benzílico	103	92	sem dados	100	80	sem dados
15. 4EGf + 5 %GF pH 3,8 (ácido nítrico)	99	94	96	96	96	98
16. = Nº 15 + 0,04 % de nitrato	102	95	100	96	93	98
17. = Nº 15 + 5 % etanol	96	98	99	98	87	98
18. 4EGf + 5% GF pH 4,2 (ácido cítrico)	95	85	94	93	67	98
19. = Nº 15 + 2 % álcool benzílico	101	96	97	98	93	99
20. 4EGf + 5 % GF + 0,04 % nitrato	93	75	99	99	78	95

Concentração: composição Nº 11-20 = ca. 5 mg C/ml.

Exemplo 12

Estudo de toxicidade aguda

Conduziu-se este estudo com o objectivo de observar as alterações agudas na cavidade nasal do coelho após uma dose única de veículo em cada cavidade nasal. Os veículos testados foram o glicofurol 75, tetraetilenoglicol (Fluka) e propilenoglicol (qualidade DLS, Mecobenzon, Dinamarca).

Distribuíram-se aleatoriamente 16 coelhos por 4 grupos, com 4 coelhos em cada grupo, tendo 3 grupos recebido uma aplicação intranasal única de um dos veículos em ensaio, 50 µl em cada cavidade nasal. Cada coelho recebeu apenas um composto em ensaio. Um grupo serviu como controle e recebeu igual volume de solução isotónica de cloreto de sódio.

Dez minutos após a aplicação sacrificaram-se os coelhos e sangraram-se. Em seguida, abriu-se a cavidade nasal direita e observou-se macroscopicamente. A avaliação era em ocultação como para o esquema de dosagem. Dissecou-se a cavidade nasal esquerda e fixou-se em formalina neutra tamponada para observação histológica.

As observações macroscópica e microscópica em cada coelho de 1 a 16 estão apresentadas no Quadro 8 e resumidas e resumidas no Quadro 9 no que se refere aos 4 veículos. Surpreendentemente não se observaram diferenças macroscópicas nem microscópicas entre a solução isotónica de cloreto de sódio e os três veículos testados.

18

Quadro 8

Observações das cavidades nasais de coelhos 10 minutos após a aplicação de veículo

N. A. = Ausência de anormalidades L = Nível

Observações Macroscópicas (Cavidade direita)	Observações Microscópicas (Cavidade esquerda)
1. N.A.	L. 1 Congestão L 2 Agregado linfóide focal L 3 N. A. L 4 N. A.
2. Ligeiramente hiper-hémico	L 1 Congestão L 2 Hemorragia focal; congestão L 3 Agregado linfóide focal L 4 N. A.
3. N.A.	L 1 Congestão L 2 Congestão L 3 Congestão L 4 Hemorragia submucósica focal
4. Muco revestindo a cavidade nasal mais pálido que o normal	L 1 Congestão L 2 Congestão L 3 Congestão e espessamento do muco L 4 N. A.
5. Foco hemorrágico de 2 mm em ante- rior	L 1 Congestão L 2 Congestão, hemorragia focal e descamação, edema, foco pequeno de inflamação crónica e placas linfóides focais L 3 Agregados linfóides L 4 Área de inflamação crónica

Quadro 8 (Continuação)

Observações das cavidades nasais de coelhos 10 minutos após a aplicação de veículo

N. A. = Ausência de anormalidades L = Nível

Observações Macroscópicas (Cavidade direita)	Observações Microscópicas (Cavidade esquerda)
6. Anterior hemorragia numa área de 6 x 3 mm	L 1 Congestão e foco de descamação, hemorragia instantânea. L 2 Congestão e área de hemorragia submucósica L 3 N. A. L 4 Congestão ligeira
7. N. A.	L 1 Congestão L 2 Edema, congestão, hemorragia focal L 3 Congestão, agregado linfóide focal L 4 Inflamação crônica e aguda difusa. Células poli e mononucleares. Sangue na linfa
8. N. A.	L 1 Congestão L 2 Congestão com alguma hemorragia submucósica, edema L 3 Congestão com alguma hemorragia submucósica, edema L 4 Congestão com alguma hemorragia submucósica, edema. Espessamento do muco, agregados linfóides submucósicos

50

Quadro 8 (Continuação)

Observações das cavidades nasais de coelhos 10 minutos após a aplicação de veículo

N. A. = Ausência de anormalidades L = Nível

Observações Macroscópicas (Cavidade direita)	Observações Microscópicas (cavidade esquerda)
9. N. A.	L 1 Congestão e edema L 2 Congestão e edema L 3 Congestão e infiltrado de células mono e polinucleares na parede lateral com agregado linfóide L 4 Congestão e infiltrado na parede lateral de células mono e polinucleares com agregado linfóide
10. N. A.	L 1 Congestão L 2 Congestão com agregados linfóides focais adicionais L 3 Edema e congestão L 4 Infiltrado de células mononucleares crônico focal; dilatação de linfáticos
11. N. A.	L 1 Edema e congestão L 2 Edema congestão hemorragia focal e agregados linfóides submucósicos L 3 Dilatação de venulas L 4 N. A.

Quadro 8 (Continuação)

Observações das cavidades nasais de coelhos 10 minutos após a aplicação de veículo

N. A. = Ausência de anormalidades L = Nível

Observações Macroscópicas (Cavidade direita)	Observações Microscópicas (cavidade esquerda)
12. N. A.	L 1 Congestões, dilatação de venu- las, hemorragia focal L 2 Congestão; edema, hemorragia focal L 3 Congestão; agregados linfóides submucósicos L 4 Congestão; agregados linfóides submucósicos
13. N. A.	L 1 Congestão L 2 Congestão, edema, agregados lin- fóides submucósicos L 3 Congestão, edema, agregados lin- fóides submucósicos L 4 Congestão e agregados linfóides acentuados
14. Foco hemorrágico de 3 mm parte anterior	L 1 N. A. L 2 Congestão, edema, agregados linfóides submucósicos L 3 Congestão, edema, agregados linfóides submucósicos L 4 Congestão, edema, agregados linfóides submucósicos
15. Uma pequena abra- são na área an- terior	L 1 Congestão, edema, hemorragia focal L 2 Congestão, hemorragia focal, edema, agregados linfóides submucósicos L 3 Congestão, edema, infiltrado de células mononucleares perto da secção basal L 4 Congestão

Quadro 8 (Continuação)

Observações das cavidades nasais de coelhos 10 minutos após a aplicação de veículo

N. A. = Ausência de anormalidades L = Nível

Observações Macroscópicas (Cavidade direita)	Observações Microscópicas (Cavidade esquerda)
16. Área de hemorragia para a parte anterior de 4 x 3 mm	L 1 Congestão; edema L 2 Congestão, edema, hemorragia focal e descamação L 3 Congestão, edema, agregados linfóides submucósicos especialmente próximo da base L 4 Edema, agregados linfóides submucósicos

Quadro 9

Resumo dos resultados de aplicação intranasal após 10 minutos nas cavidades nasais do coelho de 4 EGF, GF, PG e NaCl 0,9 %

(Ordenado por veículo)

N. A. = Ausência de anormalidades

Veículo	Nº de animais	Resultados Macroscópicos (lado direito)	Resultados Microscópicos (lado esquerdo)
0,9 % NaCl	3	N. A.	Hemorragia focal
	6	Foco hemorrágico de 6x3 mm, secção ant.	Hemorragia focal
	12	N. A.	Hemorragia focal
	13	N. A.	N. A.
Glicofurol (GF)	2	N. A.	Hemorragia focal
	8	N. A.	Hemorragia focal
	9	N. A.	N. A.
	16	Foco hemorrágico de 4x3 mm, secção ant.	Hemorragia focal
Propilenoglicol (PG)	4	N. A.	N. A.
	5	Foco hemorrágico de 2 mm, secção ant.	Hemorragia focal
	11	N. A.	Hemorragia focal
	14	Foco hemorrágico de 2 mm, secção ante.	N. A.
Tetra-etileno glicol (4 EGf)	1	N. A.	N. A.
	7	N. A.	Hemorragia focal
	10	N. A.	N. A.
	15	Abrasão pontual, anterior	Hemorragia focal

Verificou-se surpreendentemente, que a absorção intranasal de, por exemplo, benzodiazepinas, tais como o clonazepam e o diazepam, em veículos de acordo com a presente invenção é muito semelhante à da injeção endovenosa (i.v.). A Figura 1 evidencia que a concentração plasmática máxima de clonazepam ($t_{m\acute{a}x.}$) é alcançada em menos de 2 - 3 minutos e que a concentração plasmática após 2,5 minutos ($C_{pt(2,5 \text{ min})}$) é cerca de 100 % da que se obtém por administração endovenosa. A escolha da qualidade do veículo, de acordo com a presente invenção, tem, surpreendentemente, uma influência na taxa de absorção. A concentração plasmática de clonazepam aos 2,5 minutos é, por exemplo, cerca de 40 % superior para 4EGf (qualidade de Fluka-Chemie AG) do que para 4EGm (qualidade de Merck-Schuchardt) ou PEG 200 (de Merck-Schuchardt) e $t_{m\acute{a}x.}$ é cerca de $\leq$ 2,5, 10 e 15 minutos, respectivamente (Figura 5).

A resposta farmacodinâmica foi estudada nos coelhos. Foi medido o tempo para resposta após a aplicação intranasal de 0,25 mg de clonazepam em 100 μ l de veículo. Os tempos médios estão indicados na Figura 2 e os pormenores da experiência estão descritos no Exemplo 3. Tal como se vê na Figura 2, pode obter-se uma resposta farmacodinâmica após administração intranasal de clonazepam, de acordo com a presente invenção, decorridos menos de 2 minutos após a aplicação.

As composições da presente invenção são estáveis. Isto demonstrou-se, por exemplo, determinando a concentração de benzodiazepina das composições de acordo com a presente invenção, após um mês à temperatura de 60 e 25°C, respectivamente (ver Exemplo 11). Pode obter-se uma solução estável (recu

peração de cerca de $\geq 90 \%$) utilizando propilenoglicol após a adição de ácido acético (para correcção do pH para um valor de 3,8 a 4). A mesma quantidade de ácido acético não permitiu tornar a solução de ^4EGf estável e a quantidade de ácido acético necessário para a correcção do pH para cerca de 4 foi ~~dema~~siado elevada. Surpreendentemente, a correcção do pH utilizando ácido nítrico resultou em funções estáveis de clonazepam em, por exemplo, ^4EGf contendo eventualmente 5 % de GF (recolha de cerca de $\geq 90 \%$).

De uma forma surpreendente também se verificou que utilizando os veículos de acordo com a presente invenção conjuntamente com insulina ou glucagon se obtém uma resposta biológica acentuada em 15 a 30 minutos após a aplicação intranasal em coelhos (Figura 3 e 4 e Exemplos 4 e 5).

Exemplo 13

Biodisponibilidade

A biodisponibilidade de estrogénio (E_2) e de estrona (E_1), após administração intranasal (i.n.) a coelhos ($n=3$) de dose única de 50 mg de estrogénio foi estudada em um ensaio piloto. Testaram-se duas composições contendo 30 % e 100 % de glicofurol (GF), respectivamente, por via intranasal relativamente a uma injeção endovenosa com a mesma dose.

Materiais

Obteve-se estradiol- 17β , (estrogénio= E_2) à Novo Nordisk (Copenhaga, Dinamarca), propilenoglicol ad infundibilia (PG)

à Mecobenzon (Copenhaga, Dinamarca) e glicofurol 75 (GF) à Offmann La-Roche (Basileia, Suíça) Todos os reagentes eram de grau analítico.

Preparação do medicamento

As composições para injeção endovenosa e para aplicação intranasal foram preparadas imediatamente antes da administração. A composição 1 para administração endovenosa foi preparada por dissolução de 2,729 mg de estrogénio em 25,0 ml de propilenoglicol, seguida de adição de 25,0 ml de solução isotónica de cloreto de sódio. A composição Nº 2, para aplicação intranasal, foi preparada por dissolução de 4,938 mg de estrogénio em 10,0 ml de glicofurol. A composição 3, também para administração intranasal foi preparada por dissolução de 4,996 mg de estrogénio em 3,00 ml de glicofurol seguida de adição de uma solução isotónica de cloreto de sódio até um volume total de 10,0 ml.

Esquema do estudo e dosagem

Coelhos (n=3) com a administração endovenosa de 1,0 ml da composição 1 (equivalente a 50 µg de estrogénio) através da veia da orelha por perfusão durante 30 segundos. Os coelhos (n=3), com administração intranasal receberam a composição 2 ou 3 com aplicação intranasal por meio de uma pipeta de Eppendorph. Cada coelho recebeu 50 µl em cada narina, equivalente a 50 µg de estrogénio. A aplicação intranasal decorreu durante cerca de 5 segundos. Durante e cerca de 1 minuto depois das aplicações intranasais, os coelhos foram mantidos na posição supina.

Recolheram-se amostras de sangue aos 0, 5, 10, 20, 30 e 60 minutos após a administração. Isolou-se o plasma e conservou-se a $+20^{\circ}\text{C}$ até à análise.

As concentrações plasmáticas de E2 e E1 não conjugados foram avaliadas por ensaio radioimunológico, do modo descrito por Emmet et al., 1972. Após a extracção com éter, efectuou-se a separação de E1 e E2, em colunas de Sephadex LH20. O ensaio de radioimunidade foi realizado após a evaporação dos dissolventes. Os limites de detecção para E1 e E2 foram 40 pmoles/litro. A variação intra- e interensaios para E1 foi de 7,0 % e 9,6 % e para E2 7,4 % e 10,5 %, respectivamente.

A correcção dose/peso para as concentrações plasmáticas individuais foi calculada relativamente à média da dose endovenosa/peso (22,3 $\mu\text{g/kg}$). Para a composição 1 administrada por via endovenosa, a área sob as curvas (AUC) da concentração plasmática de E2 em função do tempo, desde o minuto 0 até ao infinito, em um compartimento com perfusão de 30 segundos, foi ajustada aos dados. Todos os outros valores AUC foram calculados por meio da regra dos trapézios.

As concentrações plasmáticas após a administração de E2 e E1 apresentam-se nos Quadros 10 e 11 e Figuras 11 e 12 respectivamente. A Figura 11 apresenta as concentrações plasmáticas médias mais ou menos o desvio padrão de estrogénio (E2), após administração de 50 μg de estrogénio, aproximadamente, a coelhos ($n=3$) sob a forma de uma injeção endovenosa (composição 1) ou administração intranasal (2.i.n. e 3 i.n. formuladas com glicofurol (GF) a 100 % e 30 %, respectivamente).

...

____x____ composição 1 i.v., ____●____ composição 2 i.n. e
0..... composição 3 i.n.,

e a Figura 12 apresenta as concentrações plasmáticas médias $\pm$ o desvio padrão de estrona (E1), após a administração de cerca de 50 μ g de estrogénio a coelhos (n=3) sob a forma de uma injeção endovenosa (composição 1) ou intranasal (composições 2 (i.n.) e 3 (i.n.) com glicofurol (GF) a 100 % e 30 % respectivamente).

____x____ composição 1 i.v., ____●____ composição 2 i.n. e
0..... composição 3 i.n.

Como se observa nas Figuras 11 e 12 e no Quadro 12, a aplicação intranasal foi muito semelhante à administração endovenosa. A biodisponibilidade indica-se no Quadro 12. A biodisponibilidade para E2 foi 87 e 80 % e para E2+E1 104 e 95 % para a composição 2 (i.n.) e 3 (i.n.), respectivamente. A C_{5min} para E2 foi 109 % e 95 % e para E2+E1 118 % e 105 %. A T_{max} foi menor do que 5 minutos.

Quadro 10

Concentrações plasmáticas individuais de estrogênio (E2) após administração de cerca de 50 µg de estrogênio a coelhos (n=3) sob a forma de injeção i.v. (composição 1) ou de administração intranasal (2 i.n. e 3 i.n., preparadas com glicofurool (GF) a 100 % e 30 %, respectivamente).

n.d. = menos de 0,04 nmol/ml.

Composição	Nº de coelhos	concentração plasmática E2 (nmol/ml) após min.						Dose / peso / pg/kg
		0	5	10	20	30	60	
1. i.v.	4	n.d.	49,0	37,0	19,0	15,0	4,90	22,2
	5	0,12	65,0	45,0	29,0	18,0	7,60	21,8
	6	0,12	38,0	10,0	25,0	21,0	11,0	22,9
2. i.n. (100 % GF)	1	0,19	75,0	26,0	16,0	11,0	3,70	20,1
	2	0,09	50,0	12,0	18,0	11,0	5,20	21,3
	3	n.d.	44,0	24,0	14,0	8,8	3,30	19,3
3. i.n. (30 % GF)	7	0,10	41,0	31,0	15,0	8,7	3,90	17,5
	8	0,09	64,0	32,0	18,0	10,0	3,40	19,4
	9	0,08	31,0	17,0	8,2	5,9	1,90	18,5

Quadro 11

Concentrações plasmáticas individuais de estrona (E1) após administração de cerca de 50 µg de estrogênio a coelhos (n=3) sob a forma de injeção i.v. (composição 1) ou de administração intranasal (2 i.n. e 3 i.n. preparadas com glicofurool (GF) a 100 % e 30 %, respectivamente).

n.d. = menos de 0,04 nmol/ml.

Composição	Coelho Nº	Concentração plasmática de E1 (nmol/ml)					após min		Dose/ peso pg/kg
		0	5	10	20	30	60		
1. i.v.	4	n.d.	4,30	4,30	3,10	2,70	1,60		22,2
	5	n.d.	4,00	5,10	4,60	3,30	1,50		21,8
	6	n.d.	2,20	2,60	2,80	2,30	1,50		22,9
2. i.n. (100% GF)	1	n.d.	11,00	9,90	7,10	4,80	3,00		20,1
	2	n.d.	6,20	7,40	6,00	3,40	3,00		21,3
	3	n.d.	8,50	9,00	5,90	4,30	1,60		19,3
3. i.n. (30 % GF)	7	n.d.	8,10	8,90	5,80	3,90	2,30		17,5
	8	n.d.	5,30	6,10	5,00	3,90	2,40		19,4
	9	n.d.	8,80	7,50	3,80	3,70	1,90		18,5

Quadro 12

Dados farmacocinéticos (dose relativa corrigida para a dose i.v. média) para estrogénio (E2) e estrona (E1) após administração única de 50 µg aproximadamente de estrogénio (n=3) sob a forma de injeção endovenosa (1 i.v.) ou administração intranasal (2 i.n. e 3 i.n.) AUC (nmol·les/ml. minuto) representa a área sob a curva de concentração plasmática em posição do tempo desde 0 minutos até ao infinito.

C_{max} (nmol/ml) representa a concentração plasmática máxima.

t_{max} (min.) representa o tempo para a concentração plasmática máxima.

Parâmetro	Média observada (dose corrigida)			% relativa para 1 i.v. - média ± SD		
	1 i.v.	2 i.n.	3 i.n.	2 i.n.	3 i.n.	
AUC	E ₂	1302	1138	1038	87±11	80±30
	E ₁	241	471	432	195±18	179±12
	E ₂ +E ₁	1543	1609	1470	104±13	95±25
	E ₂	57	62	54	109±29	95±35
C _{max}	E ₁	4	10	10	150±22	250±22
	E ₂ +E ₁	61	72	64	118±28	105±33
	E ₂	5	5	5	100±0	100±0
t _{max}	E ₁	12	8	8	67±38	67±38

✓

CONCLUSÕES

Verificou-se que a solubilidade de E2 em glicofurol é cerca de 230 mg/ml. Portanto, uma dose clínica de 50 µg é solúvel em 0,25 µl. Assim, a aplicação de uma dose clínica em um volume extremamente pequeno (µl) torna-se possível utilizando glicofurol. Como a solubilidade diminui exponencialmente numa associação com água, o volume da dose utilizando glicofurol como um veículo deve ser, por exemplo, cerca de 5 µl para evitar uma precipitação indesejável de E2 na mucosa nasal.

Um volume pequeno da dose é desejável para reduzir ou eliminar o efeito irritante local. Alternativamente, pode adicionar-se um co-dissolvente não irritante, por exemplo, um óleo vegetal. Neste sentido pode obter-se um volume de dose pretendido ou uma velocidade de libertação desejada. Para reduzir a concentração plasmática máxima, pode ser também desejável uma precipitação limitada de E2 no muco.

Uma composição de glicofurol anidra pode ser útil para um surto agudo assim como para a dosagem crónica.

62

Lista de Referências

Lau, S.W.J. e Slattery, J. T., "Absorption of diazepam and lorazepam following intranasal administration", International Journal of Pharmaceutics, 54 (1989), 171-174.

Mayer, W., Erbe, S., Wolf, G. e Voigt, R., "Beitrage zur analytik und stabilitat einiger pharmazeutisch interessanter 1.4-benzodiazepine", Pharmazie, 29 (1974), H.10-11, 700-707.

Morimoto, K., Tabata, H. e Morisaka, K. (1987), "Nasal absorption of nifedipine from gel preparation in rats", Chemical and Pharmaceutical Bulletins, 35, Nº 7 (1987), 3041-3044.

Nielsen, N.H. Frølund, L., Bindslev-Jensen, C e Svendsen, U.G., "A. new formulation of flunisolide for intranasal application reduces side effects", Allergy, 44 (1989), 233-234.

Proctor, D.F., "nasal physiology in intranasal drug administrations", in Chien, Y.W. (ed.), Transnasal Systemic Medications, Fundamentals, Developmental Concepts and Biomedical Assessments, Amesterdão ELSVIER Science Publishers, 1985, pp. 101-105.

Spiegel, A.J. e Noseworthy, M.M., "Use of nonaqueous solvents in parenteral products", Journal of Pharmaceutical Sciences, 52, (Outubro 1963), Nº 10, 907-927.

...

Spiegelberg, H., Schläpfer, R., Zbinden, G. e
Studer, A., "Ein neues injizierbares Lösungsmittel (Glycofu-
rol)", Arzneittelforschung, 6 (1956), 75-77.

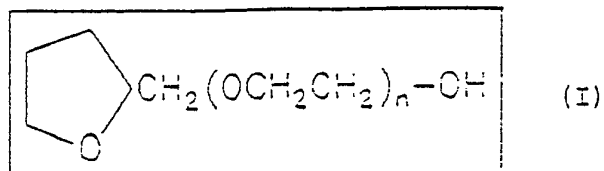
Wilton, N.C.T., Leigh, J., Rosen, D.R. e Pandit,
U.A., "Preanaesthetic sedation of preschool children using
intranasal midazolam", Anesthesiology, 69, (1988), 972-975.

Rei-

83

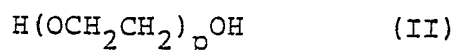
R E I V I N D I C A Ç Õ E S

1.- Processo para a preparação de composições farmacêuticas apropriados para administrar através de uma membrana mucosa de um mamífero uma ou mais substância(s) biologicamente activa(s), caracterizado pelo facto de se dissolver(em) essa(s) substância(s) biologicamente activa(s) em um veículo constituído parcial ou totalmente por uma ou mais substância(s) escolhida(s) entre o grupo que consiste em n-glicofuróis de fórmula geral



na qual

n representa um número inteiro de 1 a 8,
e n-etilenoglicóis de fórmula geral



na qual

p representa um número inteiro de 1 a 14,
em quantidades compreendidas entre 0,0001% e 50% da composição
total.

2.- Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de se utilizarem n-etilenoglicóis de fórmula geral II na qual p representa um número inteiro de 1 a 8.

3.- Processo de acordo com as reivindicações 1 ou 2, caracterizado pelo facto de se utilizarem n-glicofuróis de fórmula geral I na qual n representa o número inteiro 1 ou 2.

4.- Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo facto de se dissolverem substâncias biologicamente activas escolhidas entre péptidos biologicamente activos digeríveis no tracto gastrointestinal.

5.- Processo de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo facto de se dissolver uma substância biologicamente activa escolhida entre um grupo constituído por factores de coa-

gulação tais como o Factor VII, o Factor VIII, o Factor IX ou os seus derivados e análogos; agentes capazes de controlarem o metabolismo ósseo tal como a calcitonina ou os seus derivados e análogos; hormonas segregadas pelo hipotálamo tal como a hormona libertadora da hormona luteinizante (LHRH) ou análogos como, por exemplo, nafarelin, buserelin ou Zolidex, encefalinas tais como DADLE, metcefamida ou leucina-encefalina; hormonas segregadas pelo pâncreas tais como a insulina ou o glucagon ou os seus derivados ou análogos; hormonas segregadas pela glândula pituitária tais como a hormona do crescimento, a vasopressina ou a oxitocina ou os seus derivados ou análogos como, por exemplo, DDAVP ou a lipressina; hormonas sexuais tais como a hormona folículo-es-timulante (FSH), a hormona luteinizante (LH) ou LTH ou os seus derivados ou análogos.

6.- Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo facto de se dissolverem substân-cias biologicamente activas escolhidas entre anti-epilépticos, espasmolíticos ou tranquilizantes escolhidos entre benzodiazepi-nas tais como clonazepam, diazepam, flunitrazepam, triazolam, lorazepam, nitrazepam ou as suas misturas em uma quantidade com-preendida entre aproximadamente 0,001 e 20%.

7.- Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 4 a 6, caracterizado pelo facto de se utilizar ainda áci-

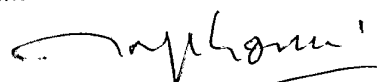
do azótico e/ou um nitrato em uma concentração compreendida entre 0,0001 e 5%.

8.- Processo de acordo com as reivindicações 4 ou 5, caracterizado pelo facto de se incorporarem hormonas pancreáticas tais como a insulina ou os seus derivados ou análogos e o glucagon ou os seus derivados ou análogos.

9.- Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de se dissolver(em) a(s) substância(s) biologicamente activa(s) utilizando ultra-sons e/ou pela acção do calor a uma temperatura elevada.

Lisboa, 8 de Maio de 1991

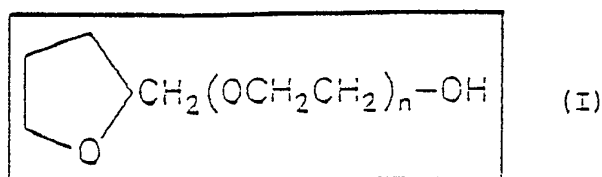
● Agente Oficial da Propriedade Industrial



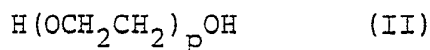
R E S U M O

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO SUBSTÂNCIAS BIOLOGICAMENTE ACTIVAS DO GRUPO DOS N-GLICOFURÓIS"

Descreve-se um processo para a preparação de composições farmacêuticas com acção sistémica rápida e intensa para administrar através de uma membrana mucosa substâncias biologicamente activas, que consiste em dissolver essas substâncias biologicamente activas em um veículo constituído parcial ou totalmente por uma ou mais substância(s) escolhida(s) entre o grupo de n-glicofuróis de fórmula geral



e de n-etilenoglicóis de fórmula geral



Estas composições farmacêuticas utilizam-se como uma alternativa às composições para administração intravenosa uma vez que permitem atingir de um modo igualmente rápido uma eleva-

da concentração plasmática de substâncias biologicamente activas
nelas incorporadas.

Lisboa, 8 de Maio de 1991

O Agente Oficial da Propriedade Industrial

