



(19) INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
PORTUGAL

(11) Número de Publicação: PT 700679 E

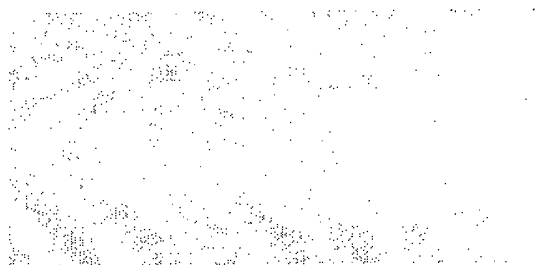
(51) Classificação Internacional: (Ed. 6)
A61K009/127 A

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de depósito: 1995.08.30	(73) Titular(es): BAYER AG D-5090 LEVERKUSEN I DE
(30) Prioridade: 1994.09.12 DE 4432378	
(43) Data de publicação do pedido: 1996.03.13	(72) Inventor(es): PETER KURKA, DR. DE PETER SERNO, DR. DE MATTHIAS HERBOTH DE HANS-JURGEN HAMANN DE
(45) Data e BPI da concessão: 1999.12.09	(74) Mandatário(s): JORGE BARBOSA PEREIRA DA CRUZ RUA DE VÍTOR CORDON 10-A 3/AND. 1200 LISBOA PT

(54) Epígrafe: PREPARAÇÃO FARMACÉUTICA INJECTÁVEL DE LIPOSSOMAS

(57) Resumo:





FOLHA DO RESUMO

PAT. INV. <input type="checkbox"/> MOD. UTI. <input type="checkbox"/> MOD. IND. <input type="checkbox"/> DES. IND. <input type="checkbox"/> TOP. SEMIC. <input type="checkbox"/>					CLASSIFICAÇÃO INTERNACIONAL (51)
N.º <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/> (11) DATA DO PEDIDO ____ / ____ / ____ (22)					
REQUERENTE (7) BAYER AG, alemã, com sede em 51368 Leverkusen, Alemanha (NOME E MORADA)					
CÓDIGO POSTAL <input type="text"/>					
INVENTOR(ES) / AUTOR(ES) (72) HANS-JÜRGEN HAMANN; PETER SERNO; MATTHIAS HERBOTH e PETER KURKA, residentes na Alemanha					
REIVINDICAÇÃO DE PRIORIDADE(S) (30)			FIGURA (para interpretação do resumo)		
DATA DO PEDIDO	PAÍS DE ORIGEM	N.º DO PEDIDO			
12.09.94	Alemanha	4432378			
EPIGRAFE (54) "PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA INJECTÁVEL DE LIPOSSOMAS"					
RESUMO (max. 150 palavras) (57) O invento refere-se a um fórmula estável e injectável de lipossomas para agentes químicos lipófilos e dificilmente solúveis, em forma de lipossomas, que estabilizam através de ácidos gordos de cadeia curta, com especial aplicação em agentes químicos provenientes dos grupos das di-hidropiridinas.					

NÃO ESCREVER NAS ZONAS SOMBREADAS

DESCRIÇÃO

"PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA INJECTÁVEL DE LIPOSSOMAS"

O invento refere-se a uma fórmula de lipossomas, estável e injectável para agentes químicos lipófilos e dificilmente solúveis, em forma de lipossomas, que estabilizam através de ácidos gordos de cadeia curta, com especial aplicação em agentes químicos provenientes dos grupos das di-hidropiridinas.

Em muitos agentes químicos farmacêuticos importantes são necessárias fórmulas de aplicação intervenosa, por exemplo para uma terapia inicial rápida, em situações críticas de necessidade e também no tratamento de casos clínicos graves. Muitos agentes, inclusivamente muitas di-hidropiridinas apresentam uma difícil dissolubilidade em água e por isso não são formuláveis em soluções aquosas. Um outro problema é a susceptibilidade de muitas substâncias à hidrólise e à oxidação.

O problema da dissolubilidade e da sensibilidade à hidrólise pode ser solucionada pela aplicação dos solventes orgânicos habituais, como sejam o etanol, o glicol polietilénico ou o glicol propilénico. Muitos destes solventes são porém mal tolerados no local de aplicação e por isso têm que ser aplicados através de um catéter central ou diluídos numa solução de infusão aquosa. Por último, devido à má dissolubilidade na água pode dar-se uma supersaturação ou ocorrer uma cristalização. No caso de terapia intervenosa mais prologada aí são graves as conseqüentes quantidades de solventes orgânicos frequentemente tóxicos. É também problemática a utilização de células saponáceas ou tensidímetras dissolvidas, que podem ser formuladas pela incorporação do agente



químico em soluções de laurilsulfato de sódio ou soluções polisorbáticas, porque desta forma podem surgir complicações graves, como hemólise ou sintomas tipo choque.

São conhecidos inúmeros processos que incorporam agentes químicos dificilmente solúveis no condutor de nanopartículas, evitando assim a utilização de solventes tóxicos e tensores. Incluem-se aqui por exemplo as emulsões parenterais, as células mistas de sal biliar e lecitina e os lipossomas. Nestes sistemas, os agentes químicos apresentam-se como partículas coloidais, dispersas na água, podendo ser só introduzidos os agentes químicos estáveis à hidrólise.

Na publicação de N. Muranushi e outros., *Internal Journal of Pharmaceutics*, 4 (1980), página 281-290, estão descritos lipossomas para absorção gastrointestinal, que contêm agentes químicos solúveis na água e que se distinguem claramente das preparações parenterais a que respeita o invento, pelos seus produtos farmacêuticos lipófilos dificilmente solúveis.

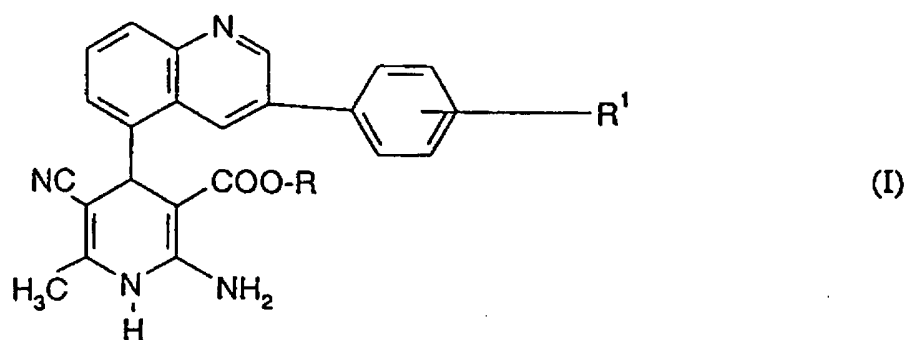
Nesta literatura, bem assim como na publicação de Mahendra Kumar Jain e outros, *The Journal of Membrane Biology*, 34 (1977), página 157-201, é claramente apontado o facto de, através da adição de ácidos gordos de cadeia curta, ocorrer uma elevada permeabilidade da membrana dos lipossomas. De acordo com estes conhecimentos técnicos da altura, não se esperava que a utilização de ácidos gordos de cadeia curta, levasse a uma estabilização dos lipossomas a que o invento diz respeito.

Também é conhecido que os lipossomas, com os agentes químicos aí incorporados, podem ser estabilizados com secagem por congelação (comp. Betageri et al., *Liposome Drug Delivery Systems*, Technomic Publishing AG. Basel, 1993, Pág. 118). Neste caso é necessária a adição de um crioprotector, que

com base no seu efeito estabilizador da membrana, garante a integridade dos lipossomas. São conhecidos como quiro-protectores os polialcoóis como por exemplo a glicerina, os monossacáridos como a glucose, as dissacáridos como a sacarose, lactose ou a treolose e proteínas como por exemplo os aminoácidos (comp. Y.Öetzer et al., Influence of Freezing and Freeze-drying on the Stability of Liposomes Dispersed in Aqueous Media, Acta Phar. Technol. 34 (3), 1988, S. 129-139).

A partir do EP-A-560 138 são também já conhecidas preparações liposomáticas estáveis e secas por congelação com di-hidropiridinas, como por exemplo Nimodipina. Aí a produção efectua-se com a utilização de fosfolípidos, quiro-protectores habituais e um estabilizador de pH.

É manifesto também que determinados agentes químicos problemáticos, que são difíceis de dissolver, sendo ainda sensíveis à hidrólise e à oxidação não podem ser transformados em fórmulas de lipossomas suficientemente estáveis, de acordo com os métodos conhecidos até agora. Isto aplica-se especialmente nas di-hidropiridinas, como sejam a nimodipina ou outras semelhantes de fórmula geral (I)



na qual

R representa alquilo com 1 – 6 átomos de carbono e



R¹ representa hidrogénio, halogénio, cianogénio, difluórmétilo, alquilo ou alcoxi, cada um respectivamente com 1 – 4 átomos de carbono.

Aos lipossomas a que diz respeito o invento são especialmente adequados a nimodipina ou a di-hidropiridina da fórmula geral I na qual

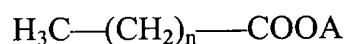
R representa alquilo com 1 – 4 átomos C, especialmente n-propilo ou iso-propilo e

R¹ representa hidrogénio, flúor, cloro, cianogénio ou trifluórmétilo, especialmente hidrogénio.

A produção desta di-hidropiridina realiza-se de acordo com os métodos habituais, de acordo com o método escrito em DOS 4 117 750.

As di-hidropiridinas são produtos farmacêuticos altamente eficazes que também podem ser aplicados na terapia da insuficiência dos músculos do coração. Nesta indicação é de especial interesse uma fórmula estável e que actue com rapidez.

O invento refere-se assim a uma preparação farmacêutica estável aplicável parenteralmente com base em lipossomas com membranas fosfolípidas caracterizadas pelo facto de ter como estabilizador contra a floculação um ácido gordo de cadeia curta da fórmula II



(II)

na qual

n representa 4 – 8, especialmente 6 e



A representa hidrogénio ou um cateão com um valor de 1- ou 2-, especialmente de sódio ou potássio na qual a relação de peso do agente químico em relação ao fosfolípido é de 1 para 20 no máximo de 200 e a relação de peso dos ácidos gordos de cadeia curta em relação ao fosfolípido é de 1 para 2 no máximo de 60.

Têm um interesse especial as preparações liposomáticas nas quais a relação de peso dos ácidos gordos de cadeia curta em relação aos fosfolípidos é de 1 para 4 no máximo de 50. Na experiência de transformar agentes químicos de di-hidropiridina da fórmula geral I de acordo com EP-A-560 138 ficou demonstrado que estas tanto química como fisicamente não eram suficientemente estáveis (ver exemplo comparativo a partir de A). Depois de um armazenamento curto de unicamente duas semanas à temperatura ambiente a quantidade total de produtos de decomposição indesejáveis tornou-se intolerável. Além disso apareceu uma manifesta floculação e agregação depois da reconstituição dos lipossomas com água destilada.

Surpreendentemente descobriu-se que se obtêm também lipossomas química e fisicamente estáveis com as problemáticas di-hidropiridinas da fórmula geral quando se adicionam aos lipossomas ácidos gordos de cadeia curta da fórmula geral II ou dos seus sais.

Segundo o conhecimento que se tem do estado em que se encontra a técnica, não se podia esperar o efeito dos lipossomas, de acordo com o invento, de possuírem uma elevada estabilidade física através da adição de ácidos gordos de cadeia curta e dos seus sais e de ser evitada a floculação indesejável e a agregação depois da reconstituição. Na literatura (Comp. J. H. Crowe e outros, Effects of Free Fatty Acids and Transition Temperature on the Stability of Dry Liposomes, Biochemica et Biophysica Acta, 979, (1989) Pag. 7-10) relata-se que os ácidos gordos habituais actuarão de forma estabilizadora das membranas e



fusogénica, isto é, fomentando a união dos lipossomas. Através de análises microscópicas, gelcromatografia e espectroscopia de correlação Laser pode ver-se que a inclusão de ácidos gordos de cadeia média, no âmbito da concentração, e de acordo com o invento, não influencia de forma significativa o tamanho das partículas dos lipossomas, evita a floculação e agregação dos lipossomas e não provoca destabilização. Pode simultaneamente demonstrar-se que o agente químico de di-hidropiridina está totalmente incorporado (100%) nos lipossomas.

A concentração dos ácidos gordos de cadeia curta, de acordo com o invento, corresponde a 0,4 podendo ir até 10 mg por ml da dispersão de lipossomas, pronta para aplicação. Relativamente à quantidade dos fosfolípidos aplicados, aplica-se uma percentagem do peso dos ácidos gordos de cadeia curta e os seus sais com 2 até 60, de preferência 4 até 50 da percentagem de peso dos fosfolípidos.

É vantajosa a inclusão de outros agentes auxiliares, especialmente de disacáridos como a trealosa, a sacarose e a lactose como crioprotectores. Especialmente a sacarose mostra uma acção crioprotectora óptima. A relação do crioprotector com o fosfolípido situa-se entre 0,8 até 4 para 1, de preferência em 1,2 até 2,5 para 1.

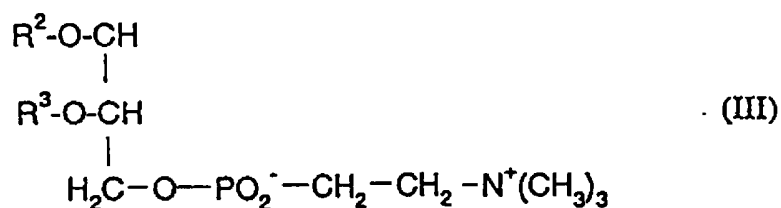
A relação do agente químico com o fosfolípido são 1 para 20 até 200, de preferência 1 para 30 até 80 e muito especialmente 1 para 30 até 50.

Para se conseguir uma pressão isotónica podem também ser aplicados ao meio de reconstituição um ou mais agentes apropriados e osmoticamente activos. Como apropriados indicam-se o glicerol, a manita e a glucose; mas especialmente o glicerol.



Em caso de necessidade os lipossomas a que respeita o invento podem conter outros agentes auxiliares, por exemplo estabilizadores como sejam os anti-oxidantes do tipo butilhidroxianisol, butilhidroxitolueno, alfa-tocoferol e os seus sais e ácidos ascórbicos e os seus sais e ester, de preferência ácidos ascórbicos e os seus sais, como sejam os agentes reguladores do pH como amortizadores, ácidos ou sais, especialmente ácidos ascórbicos e hidróxido de sódio.

De acordo com o invento podem aplicar-se os fosfolípidos habituais. De preferência são utilizados fosfolípidos que apresentam fosfoglicéridos exteriormente não carregados, que também são iões híbridos intramoleculares e que correspondem à fórmula geral III



na qual R^2 e R^3 são iguais ou diferentes e representam respectivamente acilogrupos saturados ou não saturados com 8 até 24 átomos que também podem ser ramificados e/ ou substituídos.

A par dos fosfolípidos da fórmula III podem ser também recebidos em quantidades menores outros tipos de fosfolípidos como fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, esfingomiéline, fosfatidilglicerol e/ou ácidos fosfatídicos. Os fosfolípidos aplicados podem ser produzidos por purificação a partir de fontes naturais, como sejam a lecitina bruta de soja ou de ovo ou sinteticamente. De preferência é utilizada lecitina de ovo purificada.



Os lipossomas a que o invento se refere podem ser obtidos de acordo com os processos de produção habituais, por exemplo através de homogeneização a alta pressão, extrusão por poros, processo de diálise e processo de diluição e dispersão de ultra sons, de preferência por homogeneização a alta pressão, como seja por exemplo a micro-fluição.

Desta forma o invento refere-se também a processos de produção de lipossomas de acordo com o invento, caracterizado pelo facto de se pré-dispersar em água com um agitador, uma percentagem do peso do agente químico lipófilo e 20 até 200 da percentagem do peso dos fosfolípidos eventualmente em conjunto com um oxidante a uma temperatura entre 10 e 90°C de preferência entre 50 e 80°C, eventualmente sob utilização de gás de nitrogénio e depois homogeneizado num homogeneizador de tubeiras de alta pressão a temperaturas entre os 20 e os 80°C e uma pressão entre 400 e 1500 bar, tendo as partículas um tamanho médio de 35 a 200 nm e finalmente dissolve um protector de cianogénio e um ácido gordo de cadeia curta da fórmula geral II ou o seu sal numa relação ácido gordo - fosfolípido de 1 para 2 até 60 no produto homogeneizado e seca por congelação a dispersão obtida.

Numa variante deste processo o agente químico e/ou o protector cianogénico podem ser adicionados já durante a pré-dispersão ou durante a homogeneização por tubeiras de alta pressão. Do mesmo modo podem também acrescentar-se ácidos gordos de cadeia curta ao meio de reconstituição de forma que eles só entram em contacto directo com os lipossomas durante o processo de reconstituição. Em ambos os casos evita-se uma floculação dos lipossomas reconstituídos durante mais de 24 horas, simultaneamente conservam-se os diâmetros médios das partículas dos lipossomas e garante-se a estabilidade química do agente.



Se a concentração dos ácidos gordos exceder 10 mg/ml ocorre uma destabilização dos lipossomas e uma saída do agente químico de dentro dos lipossomas como se pode ver no exemplo comparativo B. Sem a adição de ácidos gordos de cadeia curta, de acordo com o invento, as dispersões floculam no espaço de 24 horas, como se pode ver no exemplo comparativo C.

Os exemplos de execução que se seguem, mostram de forma exemplar as vantagens do processo, a que o invento diz respeito, para o agente químico típico e a estabilidade dos lipossomas assim obtidos. Os exemplos comparativos de A-C mostram, pelo contrário, a instabilidade e as desvantagens dos produtos obtidos pelos processos conhecidos até agora e que se situam fora das formulações reivindicadas. Todos os dados de percentagem são percentagem de peso.

Exemplos de execução

Exemplo de execução 1:

5,5997kg de água destilada são tratados com gás azoto durante 30 minutos. Depois desta atribuição de gás dissolvem-se em água 16,2 gramas de ascorbato de sódio, adicionando-se por fim 580,5 g de lecitina de ovo purificada (fosfatidilcolina >94%). Esta mistura é dispersa durante 30 minutos num agitador de grande rotação a 65°C. Depois da diluição total da água a pré-dispersão é filtrada através de um filtro de membrana (tamanho do poro 8µm) e passada a um homogeneizador de alta pressão.

A dispersão é homogeneizada 5 vezes a 800 bar e 65°C. Seguidamente são adicionados 145 g do agente químico 2-amino-1,4 di-hidro-5-cianogénio-6 metilo-4(3-fenilquinolin-5-il)piridina-3-isopropílico de ácidos



carboxílicos e regularmente distribuídos na dispersão a baixa pressão (25 bar). Finalmente fazem-se 20 homogeneizações a 65 °C e 800 bar. Os lipossomas são arrefecidos à temperatura ambiente.

Por cada grama de produto homogeneizado são adicionados e dissolvidos 168,2 mg de sacarose e 0,11 mg de ácido ascórbico. A dispersão é regulada com 0,1 N de uma solução de NaOH com um pH de 6,5 e filtrada com esterilização através de um filtro de membrana (com 0,2 μ de tamanho do poro), é vertida em pequenos frascos de vidro castanho de 2,5 ml cada e seca por congelação.

A dimensão média dos lipossomas antes da secagem por congelação são 48 nm. Depois da sua reconstituição com 10 ml de uma solução aquosa com 0,0495% de caprilato de sódio e 1,51% de glicerol o tamanho médio dos lipossomas são 57 nm. Após 24 horas de permanência da solução de reconstituição o tamanho médio dos lipossomas são 57 nm. Nestas 24 horas não surge na dispersão reconstituída qualquer floculação e/ou formação de precipitação.

Testes gelcromatográficos mostram que o agente químico está incorporado a 100% nos lipossomas.

Exemplo de execução 2:

Em 638,33 g de água destilada pré-gaseificada com azoto dissolve-se 1,85651 g de ascorbato de sódio. A esta solução adiciona-se 66g de lecitina de ovo purificada (teor de fosfatidilcolina >94%). A mistura é dispersa com um agitador de grande velocidade durante 30 min a 60°C. Finalmente enche-se com água gaseificada com hidrogénio a 706,2 g e 1,65 g do agente químico de acordo



com o exemplo 1 de execução. Para uma distribuição uniforme do agente químico faz-se mais uma dispersão durante 3 min.

A dispersão efectua-se num homogeneizador de alta pressão e é homogeneizado com 25 passagens a 60°C e 800 bar.

Finalmente dissolvem-se 637,19 g de sacarose na dispersão de lipossomas e o valor de pH da dispersão é regulado com 0,1-N de solução de NaOH com pH a 6,5.

Depois da filtração esterilizada (Filtro de membrana com 0,2 µm de tamanho do poro), a dispersão pronta é vertida em pequenos frascos de vidro castanho de 2,64g cada e seca por congelação.

Após três meses de permanência a 40°C dos lipossomas secos por congelação o teor de agente químico é 98,5% e no espaço de 24 horas depois da reconstituição não surge qualquer flocculação e/ou formação de precipitação com 10ml de uma solução aquosa com 0,0495% de caprilato de sódio e 1,51% de glicerol.

Exemplo de execução 3:

12,53g de ácido ascórbico e 2,85 g de hidróxido de sódio dissolvem-se em 4868,18 g de água por agitação sendo finalmente adicionados 504,8 g de lecitina de ovo purificada (fosfatidilcolina>94%) e esta mistura dispersa num misturador de grande rotação. A dispersão é filtrada por um filtro de membrana (com 0,2 µm de tamanho do poro), e depois homogeneizada num homogeneizador a 800 bar com 25 passagens. Depois dissolvem-se 908,70 g de sacarose na dispersão de lipossomas e o valor de pH é regulado para 6,5 na



dissolução de 0,6 g de ácido ascorvico e correspondente titrimetria com uma solução de 0,1 N de uma solução de hidroxilo de sódio. Para protecção contra oxidação todo o processo é efectuado sob gás azoto.

Acrescenta-se 12,6g (4R) Isopropilo-2-metoxietilo-4-cloro-3-cianogénio-fenilo)-1,4 di-hidro-2,6-dimetilo-piridina-3,5 -dicarboxialato e a dispersão é agitada 12 horas até estar dissolvida toda a quantidade de agente químico. Depois de uma nova filtração a dispersão é seca por congelação em doses de 11,88 ml em pequenos frascos de 50ml. O produto liofilizado é reconstituído com uma solução de 0,725 g de glicerina e 0,02375 g de capriolato de sódio em 47,184 g de água destilada.

Exemplo de execução 4:

A 4,6583 Kg de água destilada é aplicado gás azoto durante 10 minutos e finalmente são dissolvidos 5,7 g de ácido ascórbico e 852,8 g de glucose. A solução é regulada a um pH de 6,5 com a aplicação de 66 g de uma solução arginina 0,5 molar. Depois acrescentam-se 9,502 g do agente químico Nimodipina e 473,8 g de lecitina de ovo purificada (fosfatidilcolina > 80%). Esta mistura é dispersa a 75°C durante 60 minutos num agitador de grande rotação em atmosfera de azoto. A dispersão é filtrada (tamanho do poro 5µm), seguidamente homogeneizada num homogeneizador de alta pressão a 800 bar e 75°C e seguidamente arrefecida abaixo de 30°C. A dispersão é filtrada com esterilização através de filtro de membrana (tamanho do poro 0,2µm) e cheia e seca por congelação em doses de 15,30 ml em pequenos frascos de vidro castanho. Os lipossomas são recontituídos com uma solução de 0,0495% de caprilato de sódio e 1,513% de glicerina em água. Após pelo menos 24 horas depois da reconstituição a dispersão não apresenta nem precipitação nem floculação.



Exemplo de execução 5:

Aplica-se gás azoto a 171,6 g de água destilada durante 20 minutos e finalmente aplica-se-lhe 200 mg de ascorbato de sódio e 10 g de lecitina de ovo purificada (Teor de fosfatidilcolina > 94%) e 200 mg do agente químico etomidato ((R)-etil-(α -metilbenzil)-5-imidazolcarboxilato). A mistura é dispersa durante 20 minutos a 60°C numa atmosfera de azoto num agitador de alta velocidade. Depois da aplicação da água vaporizada a pre-dispersão passa a um homogeneizador de alta pressão e homogeneizada em 25 passagens a 800 bar e 60°C. Finalmente acrescentam-se e dissolvem-se 98,9 mg de sacarose e 1,8 mg de caprilato de sódio por cada grama de produto homogeneizado e regula-se o valor de pH da dispersão para 6,5 com a utilização de 1 N hidróxido sódico. Depois da filtração com esterilização (filtro de membrana com uma dimensão de poro de 0,2 μ m) a dispersão é vertida em frascos de vidro castanho até 20,0g e seca por refrigeração.

A dimensão média dos lipossomas antes da secagem por congelação são 56 nm. Depois da reconstituição com 17,16 g de solução de glucose (a 5%) a dimensão média dos lipossomas é 61 nm. Durante pelo menos 4 horas após a realização da reconstituição não se verificou qualquer floculação ou precipitação.

Exemplo de execução 6:

1,4 g de ascorbato de sódio são dissolvidos em 425 g de água destilada sem substâncias ácidas. Depois acrescentam-se 50g de lecitina de ovo pura (Teor de fosfatidilcolina > 80%) e 1,5 g de paclitaxel (Taxol) e finalmente faz-se a dispersão com um agitador de grande rotação a 65°C durante 30 minutos. A dispersão obtida é homogeneizada num homogeneizador de alta pressão a 725 bar e 60°C com mais de 25 passagens.



A 382,32 desta dispersão homogeneizada acrescentam-se 72 g de sacarose e 80 mg de ácido ascorbico, o valor de pH é regulado por 0,1 N de solução de hidróxido de sódio a 6,5 e a dispersão cheia com água a 480g. Seguidamente a dispersão é filtrada e cheia em doses de 12,32 g (corresponde a 30mg de paclitaxel + 2,67% de sobreenchimento) em pequenos frascos de 50 ml e seca por congelação. O produto seco por congelação é reconstituído com 29,7 g de uma solução contendo 0,725 g de glicerina e 0,02375 g de caprilato de sódio em 47,187 g de água destilada. 30 ml desta dispersão reconstituída contém 30mg de paclitaxel.

Exemplos comparativos

Exemplo comparativo A: (de acordo com EP-A-560 138)

Em 253 g de água destilada, a que foi aplicado antecipadamente durante 10 min gás azoto dissolvem-se 49,1 g de glucose e 0,345g de ácido ascorbico. Seguidamente regula-se o valor de pH com 3,9 g de uma solução 0,5-M de arginina com um pH de 6,5. A esta solução acrescentam-se 27,25 g de lecitina de ovo purificada (teor de fosfatidilcolina > 80%), 0,345 g do agente químico de acordo com o exemplo de execução 1 e água destilada a que foi aplicada gás azoto até um peso total de 345 g . A mistura é dispersa durante 30 minutos com um agitador de alta rotação a 75°C. Depois da filtração (filtro de membrana 5 µm de dimensão do poro) a dispersão é passada num homogeneizador de alta pressão e homogeneizada em 25 passagens a 800 bar e 75°C.

A dispersão de lipossomas pronta é esterilizada (filtro de membrana com 0,2 µ de dimensão do poro) vertida em frascos de vidro castanho, cada um a 2,1 ml e seca por congelação.

Depois de duas semanas de armazenamento os lipossomas secos por refrigeração a 40°C o teor de agente químico desce para 89,7%

O diâmetro médio das partículas dos lipossomas depois da homogeneização a alta pressão corresponde a 45 nm. Depois da reconstituição dos lipossomas secos por refrigeração com 9,5 ml de água destilada o diâmetro médio dos lipossomas corresponde a 47 nm. Durante as 24 horas que se seguem à reconstituição a dispersão de lipossomas floclula e ocorre uma precipitação.

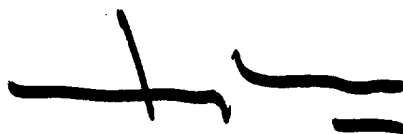
Exemplo comparativo B: (excesso de ácidos gordos)

Os lipossomas produzidos de acordo com o exemplo de execução 1 são reconstituídos com 10 ml de uma solução aquosa com 5% de caprilato de sódio e 1,51% de glicerol. Os lipossomas destabilizam. Só 5,3% do agente químico se encontra ainda incorporado nos lipossomas.

Exemplo comparativo C. (ausência de ácidos gordos)

Os lipossomas produzidos de acordo com o exemplo de execução 1 são reconstituídos com 10 ml de uma solução aquosa com 1,51% de glicerol. A dispersão floclula no espaço de 24 horas e ocorre uma precipitação.

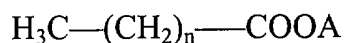
Lisboa, 17 de Fevereiro de 2000



JÓRGE CRUZ
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14
1200 LISBOA

REIVINDICAÇÕES

1. Preparação farmacêutica aplicável de forma parenteral e estável, para agente químico lipófilo, difícil de dissolver, em forma de lipossomas com membranas fosfolípidas, na qual a relação de peso do agente químico/fosfolípido é de 1 para 20 até 200 e o diâmetro médio dos lipossomas se situa entre 35 e 200 nm, caracterizados pelo facto de conterem como estabilizador um ácido gordo de cadeia curta da fórmula II



(II)

na qual

n representa 4 até 8 e

A representa hidrogénio ou um catião com valor de um ou dois

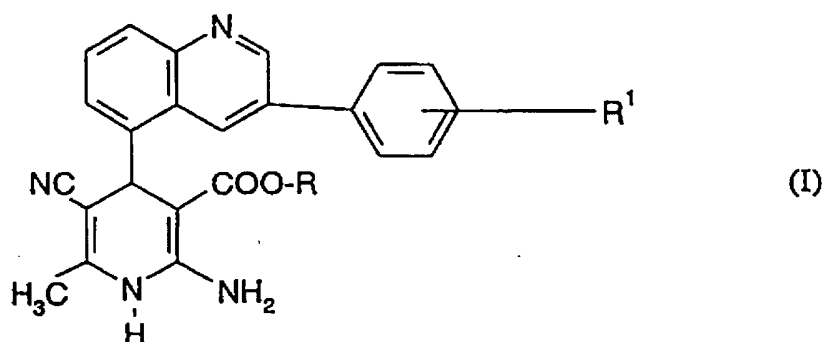
e a concentração dos ácidos gordos de cadeia curta e na solução pronta a ser aplicada

tem um valor entre 0,3 e 10,0 mg/ml..

2. Preparação farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, na qual a relação de peso dos ácidos gordos de cadeia curta e os seus sais para o fosfolípido 1 têm um valor de 2 até 60.

3. Preparação farmacêutica de acordo com a reivindicação 1 contendo como agente químico uma di-hidropiridina.

4. Preparação farmacêutica de acordo com a reivindicação 1 contendo como agente químico nimodipina ou uma di-hidropiridina da fórmula I



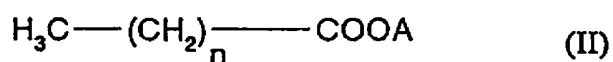
na qual

R representa alquilo com 1 – 6 átomos de carbono e

R¹ representa hidrogénio, halogénio, cianogénio, difluormetilo, alquilo ou alcoxi cada um com 1 – 4 átomos de carbono.

5. Preparação farmacêutica de acordo com a reivindicação 4, contendo como agente químico uma di-hidropiridina da fórmula I na qual R¹ representa hidrogénio, fluor, cloro, cianogénio ou trifluormetilo e R representa alquilo com 1 – 4 átomos C.

6 Utilização de ácidos gordos de cadeia curta de fórmula geral II



na qual

n representa 4-8 e

A representa hidrogénio ou um catião com valor de 1 ou 2 na produção de

preparações de aplicação parenteral, estáveis para agentes químicos lipófilos, dificilmente solúveis, em forma de lipossomas com membranas fosfolípidas.

7. Preparações farmacêuticas de acordo com a reivindicação 1, caracterizadas pelo facto dos crioprotectores conterem disacáridos.

8. Preparações farmacêuticas, de acordo com a reivindicação 1, caracterizadas pelo facto de conterem como crioprotectores 0,8 até 4,0 de partes de peso de sacarose relativamente a uma parte de peso de fosfolípido.

Lisboa, 17 de Fevereiro de 2000



JORGE CRUZ
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 14
1200 LISBOA