

(11) Número de Publicação: **PT 1434567 E**

(51) Classificação Internacional:
A61K 9/16 (2007.10) **A61K 47/48** (2007.10)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2002.10.11	(73) Titular(es): PIERRE FABRE MEDICAMENT 45, PLACE ABEL GANCE 92100 BOULOGNE- BILLANCOURT FR
(30) Prioridade(s): 2001.10.12 FR 0113178	
(43) Data de publicação do pedido: 2004.07.07	
(45) Data e BPI da concessão: 2007.12.19 028/2008	(72) Inventor(es): JACQUES FAGES FR BERNARD FREISS FR FLORENCE MARCIACQ FR MARTIAL SAUCEAU FR HUBERT LOCHARD FR
	(74) Mandatário: MANUEL GOMES MONIZ PEREIRA RUA ARCO DA CONCEIÇÃO, N.º 3, 1º ANDAR 1100-028 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM COMPOSTO DE INTERACÇÃO DE SUBSTÂNCIAS ACTIVAS COM UM SUPORTE POROSO UTILIZANDO UM FLUIDO SUPERCRÍTICO.**

(57) Resumo:
PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM COMPOSTO DE INTERACÇÃO E SUBSTÂNCIAS ACTIVAS COM UM SUPORTE POROSO UTILIZANDO UM FLUIDO SUPERCRÍTICO.

DESCRIÇÃO

PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM COMPOSTO DE INTERACÇÃO DE SUBSTÂNCIAS ACTIVAS COM UM SUPORTE POROSO UTILIZANDO UM FLUIDO SUPERCRÍTICO

A presente invenção refere-se a um processo de interacção de substância activa em nano-partículas com um suporte poroso pela tecnologia de fluidos supercríticos, em particular a do CO₂.

As novas moléculas farmacêuticas, com forte valor acrescentado, são em 40% dos casos insolúveis ou pouco solúveis em água, o que prejudica a sua biodisponibilidade. O aumento da superfície específica dos pós permite melhorar a sua velocidade de dissolução.

Ora a biodisponibilidade de princípios activos pode ser consideravelmente aumentada se a sua velocidade de dissolução for melhorada.

A geração de pós finos de superfícies específicas elevadas utilizando a tecnologia dos fluidos supercríticos utiliza-se há uma quinzena de anos.

Dois tipos de processos são classicamente utilizados: o processo RESS (Rapid Expansion of Supercritical Solution) e o processo SAS (Solvente-Anti-Solvente). Por modificação das condições operatórias, é possível controlar a morfologia e o tamanho das partículas formadas de substância activa.

As vantagens da utilização do CO₂ supercrítico como solvente são múltiplas:

- Possibilidade de trabalhar a baixa temperatura (> 31°C) para as substâncias activas termos sensíveis,
- Poder solvente facilmente modulável jogando com os parâmetros do processo (pressão, temperatura, débito...),
- Separação fácil da mistura solvente-soluto por simples descompressão,
- Inércia química do solvente: não tóxico, não inflamável, não corrosivo,
- Menor custo em comparação com solventes orgânicos classicamente utilizados.

Nos domínios farmacêutico, cosmético e nutracêutico, existem um certo número de patentes e publicações relativas à micro-encapsulação de uma substância activa num agente de revestimento. No entanto, a maioria dos processos descritos não se refere à melhoria da biodisponibilidade mas antes à adsorção de uma substância activa sobre um suporte.

Bertucco et al. (Drugs encapsulation using a compressed gas antisolvent technique - Proceedings of 4th Italian Conference on Supercritical Fluids and their Applications 1997, 327-334 - Ed. E. Reverchon) descrevem um processo no qual se coloca em suspensão a substância activa numa solução de biopolímero que desempenha o papel do suporte. Esta suspensão, colocada na autoclave, é em seguida posta na presença de CO₂ supercrítico para a dessolvatar (extração do solvente por fluido supercrítico) e provocar a complexação do suporte por sobre-saturação sobre a substância activa. Este processo é um processo *batch* (descontínuo), no qual a substância activa não é precipitada pelo fluido supercrítico uma vez que está em suspensão. A estrutura das partículas de substância activa

fica portanto inalterada o que não contribui para melhorar a sua dissolução num meio aquoso.

Um processo idêntico é descrito por Benoît et al. no seu pedido de patente WO98/13136.

Uma outra técnica de deposição de um suporte consiste em solubilizar o referido suporte no fluido supercrítico, depois em fazer precipitar esse suporte sobre a substância activa. Para isto, a substância activa e o seu suporte são previamente colocadas na autoclave agitada e a injeção de CO₂ supercrítico solubiliza unicamente o suporte (isto implica que o suporte seja solúvel no fluido supercrítico e que a substância activa não o seja) que é precipitado por modificação da pressão e da temperatura no seio da autoclave. Neste caso, a estrutura inicial da substância activa permanece inalterada, e é difícil de controlar a razão substância activa/suporte obtida no complexo precipitado. Este processo *batch* está detalhado no pedido de patente EP 706 821 de Benoît et al.

O processo de micro-encapsulação descrito por Shine e Gelb no seu pedido de patente WO98/15348 consiste em:

1. Misturar uma substância activa com um polímero de encapsulação,
2. Fundir o polímero por passagem de um fluxo de fluido supercrítico,
3. Despressurizar rapidamente de modo a solidificar o polímero em torno da substância activa.

Este processo só é aplicável com uma substância activa e um polímero insolúveis no fluido supercrítico. Por isso, a

substância activa conserva a sua estrutura de origem, o que não contribui para melhorar a sua biodisponibilidade.

No pedido de patente FR2798863 de Perrut e Majewski, a substância activa (kava-kava, curcuma, mistura de pimenta preta e colorau), previamente extraída por fluido supercrítico, é precipitada numa autoclave contendo um suporte poroso. O meio poroso estudado é a maltodextrina. Trata-se portanto de uma simples inclusão num suporte poroso, sem etapa de difusão em modo estático, da substância activa no seu suporte. Ora a precipitação sobre um suporte não é suficiente para melhorar de modo consequente a solubilidade da substância activa em meio aquoso.

A equipa de Tomasko (Chou et al., GAS crystallization of polymer-pharmaceutical composite particles, Proceedings of 4th International Symposium on Supercritical Fluids, 1997,55-57, e Kim J.H. et al., Microencapsulation of Naproxen using Rapid Expansion of Supercritical Solutions, Biotechnol. Prog. 1996, 12, 650-661) menciona dois processos de co-precipitação por RESS e por SAS com CO₂ supercrítico. A substância activa estudada é o naproxeno, enquanto que o suporte é o ácido poli-L-láctico (L-PLA). Estes dois compostos são dissolvidos simultaneamente na acetona antes de serem precipitados por injeção de CO₂ em contracorrente, no caso do processo SAS. O complexo assim formado é recuperado após um período de lavagem. A mistura de naxopreno e de L-PLA é colocada num recipiente, a partir do qual os dois compostos são extraídos pelo fluido supercrítico e precipitados numa segunda autoclave, no que se refere ao processo RESS. Ora a precipitação ou co-precipitação de uma substância activa e de um suporte não é suficiente para melhorar de modo consequente a solubilidade da substância activa em meio aquoso. Além

disso, também lá, não é descrita nenhuma etapa de difusão molecular em modo estático a fim de melhorar a interpenetração da substância activa com o seu suporte nestes dois processos. Por fim, a solubilidade da substância activa num meio aquoso não é estudada.

Acontece o mesmo para os processos de co-precipitação descritos por Sze Tu et al. (Applications of dense gases in pharmaceutical processing, Proceedings of 5th Meeting on Supercritical Fluids 1998, Tomo 1, 263-269), Weber et al. (Coprecipitation with compressed antisolvents for the manufacture of microcomposites, Proceedings of 5th Meeting on Supercritical Fluids 1998, Tomo 1, 243-248) e Bleich e Müller (Production of drug loaded by use of supercritical gases with Aerosol Solvent Extraction System (ASES) process, J. Microencapsulation 1996, 13, 131-139).

Subramaniam et al. no seu pedido de patente W097/31691 desenvolveram um equipamento e um processo a partir de anti-solventes próximos do ponto crítico e supercrítico que permite precipitar e revestir partículas. A fase de contacto entre a solução, a suspensão contendo o soluto e o anti-solvente supercrítico faz-se de tal modo que gera ondas de altas frequências que dividem a solução numa multitude de pequenas gotas. Nesta patente, o tamanho das partículas reivindicado é de 0,1 a 10 μm . Por outro lado, os processos de revestimento são igualmente descritos. Descrevem-se as cristalizações da hidrocortisona, do poli(D,L-láctido-glicólico), do ibuprofeno e da camptotecina. Ora a precipitação ou co-precipitação de uma substância activa e de um suporte não é suficiente para melhorar de modo consequente a solubilidade da substância activa em meio aquoso. Além disso, este processo não descreve uma etapa de difusão

molecular em modo estático permitindo melhorar a biodisponibilidade da substância activa.

Tom et al. (Applications of supercritical fluids in controlled release of drugs, Supercritical Fluids Engineering Science ACS Symp. Ser. 514, American Chemical Society, Washington DC, 1992) relatam a primeira co-precipitação pelo processo RESS de micropartículas de substância activa de lovastatina (anticolesterolemiantes) complexada com um polímero, o DL-PLA. Colocam-se os dois compostos numa autoclave, extraem-se com CO₂ supercrítico e precipitam-se num segundo recipiente. O principal inconveniente desse processo é a razão substância activa / suporte obtida no complexo. Com efeito, essa não pode ser escolhida com precisão já que é determinada pela solubilidade de cada um dos dois compostos no CO₂ em estado supercrítico. Ora a co-precipitação de uma substância e de um suporte não é suficiente para melhorar de modo consequente a solubilidade da substância activa em meio aquoso. Além disso, este processo não descreve uma etapa de difusão molecular em modo estático permitindo melhorar a biodisponibilidade da substância activa e, ainda, a sua solubilidade num meio aquoso não é estudada.

Um processo de impregnação de activos farmacêuticos é reivindicado no pedido de patente WO99/25322 de Carli et al.. Ele decompõe-se da seguinte maneira:

1. Solubilização do princípio activo pelo processo RESS,
2. Colocação em contacto do fluido supercrítico contendo o princípio activo com o polímero reticulado,
3. Impregnação do polímero reticulado em modo estático ou dinâmico,

4. Eliminação do fluido supercrítico.

Só substâncias activas solúveis no fluido supercrítico podem ser preparadas por este processo já que a primeira etapa consiste na extracção do princípio activo pelo fluido supercrítico. Por outro lado, o processo não é um processo de inclusão mas de impregnação sobre um suporte e não é fornecido nenhum resultado quanto à melhoria da dissolução num meio aquoso do princípio activo preparado desse modo. Por fim, o polímero impregnado não sofre a etapa de lavagem pelo fluido supercrítico.

Fisher e Müller descrevem na sua patente US 5 043 280 um processo de preparação de substâncias activas sobre um suporte utilizando fluido supercrítico. Este processo consiste em pôr em contacto um ou vários activo(s) com um ou vários suporte(s) em meio supercrítico. Para isso, os activos e os suportes são quer precipitados, quer co-precipitados por processos SAS e/ou RESS. Os compostos são obtidos sob forma estéril. Ora a co-precipitação de uma substância activa e de um suporte não é suficiente para melhorar de modo consequente a solubilidade da substância activa em meio aquoso. Além disso, este processo não descreve uma etapa de difusão molecular em modo estático permitindo melhorar a biodisponibilidade da substância activa e, ainda, a sua solubilidade num meio aquoso não é estudada.

Van Hees et al. (Application of supercritical carbon dioxide for the preparation of a Piroxicam- β -cyclodextrin inclusion compound, Pharmaceutical Research, Vol. 16 N°12, 1999) descrevem na sua publicação um processo de inclusão de Piroxicamo nas β -ciclodextrinas por CO₂ supercrítico. O

processo consiste em colocar uma mistura de Piroxicam e de β -ciclodextrinas (razão molar 1/2,5) numa autoclave pressurizada, deixada em modo estático. Após despressurização, tritura-se a mistura obtida e homogeneiza-se antes da caracterização.

Estas análises permitem concluir quanto à taxa de complexação do Piroxicam com a β -ciclodextrina mas não dão nenhum resultado sobre a melhoria da dissolução em meio aquoso do complexo Piroxicam / β -ciclodextrina em relação ao Piroxicam sozinho. Além disso, a substância activa utilizada não foi gerada por fluido supercrítico e não se realiza nenhuma etapa de lavagem com fluido supercrítico.

Kamihira M. et al. (Formation of inclusion complexes between cyclodextrins and aromatic compounds under pressurized carbon dioxide, J. of Fermentation and Bioengineering, Vol 69, N°6, 350-353, 1990) descrevem um processo de extracção de compostos aromáticos voláteis e de armadilhagem por inclusão nas ciclodextrinas. O geraniol e o óleo de mostarda são assim extraídos por um processo RESS e vaporizados em modo dinâmico numa segunda autoclave contendo uma mistura de ciclodextrina e de água. A influência dos parâmetros temperatura, pressão e teor em água é estudada medindo a taxa de inclusão das substâncias activas nas ciclodextrinas. A etapa de inclusão descrita nesta publicação realiza-se em modo dinâmico e não estático como reivindicado na presente invenção. Por outro lado, este processo não compreende etapa de lavagem com fluido supercrítico. Por fim, a solubilidade da substância activa num meio aquoso não é estudada.

Sze Tu L. et al. (Application of dense gases in pharmaceutical processing, Proceedings of 5th meeting on supercritical fluids, Nice, França, Março de 1998) descrevem na sua publicação como praticar uma precipitação por SAS de uma substância activa (ácido para-hidrobencóico) e de polímeros (PLGA - poliláctido-co-glicólido - ou PLA - poli L-ácido láctico). Esta co-precipitação realiza-se segundo duas técnicas; quer com o polímero e a substância activa em duas soluções diferentes, quer na mesma solução. Nos dois casos, as duas soluções, ou a solução, contendo os dois componentes são tratadas por SAS CO₂ supercrítico. Ora, a co-precipitação de uma substância activa e de um suporte poroso não é não é suficiente para melhorar de modo consequente a solubilidade da substância activa em meio aquoso. Além disso, este método não descreve uma etapa de difusão molecular em modo estático permitindo melhorar a biodisponibilidade da substância activa e, ainda, a sua solubilidade num meio aquoso não é estudada.

Acontece o mesmo para os processos de co-precipitação descritos por Jung et al. na sua patente FR 2 815 540. Trata-se de um processo de fabrico de partículas muito finas contendo pelo menos um princípio activo inserido numa molécula hospedeira, bem como um dispositivo que permite realizar esse processo. Esse processo consiste em pôr em solução o princípio activo num primeiro solvente líquido e um produto formado pelas moléculas hospedeiras, de tipo ciclodextrinas ou éter-coroa, num segundo solvente líquido. As soluções são então postas em contacto com um fluido à pressão supercrítica, de modo a fazer precipitar as moléculas, segundo um processo SAS. Os componentes, como no processo descrito por Sze Tu L. no artigo anteriormente citado, podem ser solubilizados no mesmo solvente. Os resultados apresentados por Jung et al. não reivindicam

melhoria na velocidade de dissolução. Ora, a co-precipitação de uma substância activa e de um suporte de tipo ciclodextrina não é suficiente para melhorar de modo conseqüente a solubilidade da substância activa em meio aquoso. Além disso, este método não descreve uma etapa de difusão molecular em modo estático permitindo melhorar a biodisponibilidade da substância activa e, ainda, a sua solubilidade num meio aquoso não é estudada.

De modo surpreendente os inventores do presente pedido descobriram que um processo compreendendo as etapas de geração de uma substância activa pouco solúvel num meio aquoso por um fluido supercrítico, sua mistura com um suporte poroso seguida de uma etapa de difusão molecular pelo fluido supercrítico em modo estático e da lavagem pelo fluido supercrítico permitia preparar um composto de interacção aumentando muito fortemente a solubilidade num meio aquoso da substância activa e portanto a sua biodisponibilidade.

Com efeito, a etapa de inclusão em modo estático acoplada à fase de precipitação da substância activa no seu suporte permitiu de modo surpreendente melhorar a dissolução da substância activa em meio aquoso. Além disso, a terceira fase de lavagem em meio supercrítico, que consiste em eliminar os solventes residuais por passagem de um fluxo de CO₂ supercrítico, permite igualmente, de modo surpreendente, além da lavagem do composto de interacção, aumentar a dissolução consecutiva a esta etapa.

Além disso, as etapas podem realizar-se em batch ou em contínuo, como é nomeadamente o caso para a difusão e lavagem. Isto permite portanto aligeirar o processo em relação às etapas convencionais que seriam:

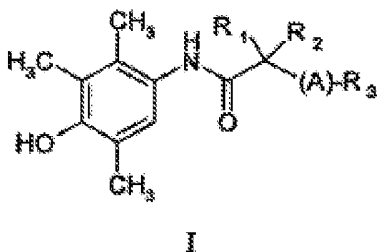
1. Cristalização
2. Separação sólido / líquido
3. Secagem
4. Inclusão no suporte
5. Micronização

Assim, a presente invenção refere-se a um processo de preparação de um composto de interacção de uma substância activa pouco solúvel num meio aquoso com um suporte poroso, caracterizado por compreender as etapas seguintes:

- (a) Misturar, com vantagem intimamente, a substância activa gerada por fluido supercrítico e a quantidade determinada de suporte poroso.
- (b) Realizar uma etapa de difusão molecular por colocação em contacto em modo estático de um fluido supercrítico com a mistura obtida na etapa (a) durante o tempo necessário para melhorar a dissolução num meio aquoso da mistura obtida na etapa (a).
- (c) Lavar o composto de interacção obtido na etapa (b) com um fluxo de fluido supercrítico.
- (d) Recuperar as partículas do composto de interacção assim formado.

Por «substância activa pouco solúvel num meio aquoso» entende-se, no sentido da presente invenção, qualquer substância activa pouco ou não solúvel num meio aquoso e tendo em particular uma solubilidade inferior a pelo menos 20 µg/ml. Em particular pode tratar-se de um activo farmacêutico, cosmético ou nutracêutico. Vantajosamente, trata-se de uma substância activa escolhida no grupo constituído pelos derivados de anilida, os derivados epipodofilotoxina, o piroxicam, o ácido valérico, o ácido

octanóico, o ácido láurico e o ácido esteárico. No caso dos derivados de anilidas, trata-se de modo vantajoso de um derivado de fórmula geral I seguinte:



na qual:

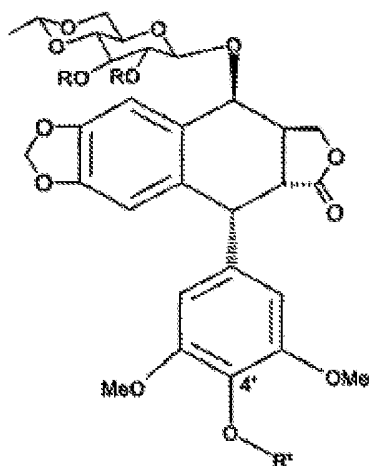
R_1 e R_2 , idênticos ou diferentes, representam independentemente um do outro um átomo de hidrogénio; um radical alcoílo linear ou ramificado em C_1-C_6 ; um grupo aromático tal como fenilo, naftilo ou piridilo eventualmente substituído por um ou vários grupos alcoílo em C_1-C_4 , alcoxi em C_1-C_4 , hidroxilo ou halogéneo,

R_3 representa uma cadeia alcoílo, linear ou ramificada, em C_6-C_{15} ou um grupo fenilo eventualmente substituído por um ou vários grupos alcoílo em C_1-C_4 , alcoxi em C_1-C_4 , hidroxilo ou halogéneo,

A representa um átomo de enxofre ou de oxigénio ou o grupo sulfoxi.

De modo ainda mais vantajoso, trata-se da (S)-2',3',5'-trimetil-4'-hidroxi- α -dodeciltiofenilacetanilida (F12511). Podendo os compostos de fórmula I possuir centros de assimetria, a substância activa de acordo com a presente invenção pode ser um dos diferentes esterióisómeros ou enantiómeros ou sua mistura. Estes derivados e seu modo de preparação são descritos no pedido de patente FR2741619.

No caso dos derivados de epipodofilotoxina, trata-se de modo vantajoso de um derivado de fórmula geral II seguinte:



II

na qual:

R' representa um átomo de hidrogénio; um grupo fosfato de monoéster; um grupo carbamato de tipo $-CO-N(R_1R_2)$ onde $N(R_1R_2)$ representa grupos aminodiacéticos e uma amina policíclica como a 3-amino-quinuclidina; um grupo acilo de tipo fosfonoacético $H_2O_3P-CH_2-CO$ ou um radical R, R representa um grupo acilo de fórmula $A-Z-CH_2-CO$ onde Z representa um átomo de oxigénio, de enxofre, um grupo SO_2 , um grupo alquilenos linear ou ramificado em C_{1-4} , neste caso A representa um núcleo fenilo substituído ou não, na condição de:

- no caso em que $R=R'$, isto é, os derivados triacilados, A representa um núcleo aromático possuindo uma função salificável,
- no caso em que $R' \neq R$, A representa um resto benzilo, naftilo, heteroarilo, fenilo substituído ou não, neste caso o fenilo pode ser substituído uma ou várias vezes, qualquer que seja a sua posição sobre o núcleo aromático, por grupos tais como halogéneos, F, Cl, Br, alcoxi linear ou cíclico em C_{1-6} , alquilo em C_{1-6} ,

metilenodioxi, OCF₃, CF₃, NO₂, CN, OCH₂ Arilo, OH, OPO₃H₂,
CH₂PO₃H₂, PO₃H₂, OCH₂CO₂H, COOH, CH₂COOH, COCH₃, CHO,

A-Z pode igualmente representar um grupo OCH₂CO₂H,
SO₂CH₂COOH, PO₃H₂.

De modo ainda mais vantajoso, trata-se da 4'-demetil-4'-
desoxi-4'-fosfato-4-0-(2,3-bis-(2,3,4,5,6-
pentafluorofenoxiacetil)-4,6-etilideno-β-D-glucosil)-
epipodofilotoxina (L0081).

Estes derivados e seu modo de preparação são descritos no
pedido de patente FR2725990.

Por «substância activa gerada por fluido supercrítico»
entende-se, no sentido da presente invenção, qualquer
substância activa tal como definida acima que tenha sofrido
uma etapa de geração por fluido supercrítico, isto é, uma
etapa que permite, graças à utilização do fluido
supercrítico, aumentar a sua superfície específica.
Vantajosamente, uma tal etapa consiste num processo RESS ou
SAS.

Por «suporte poroso» entende-se, no sentido da presente
invenção, qualquer suporte poroso apropriado, solúvel no meio
aquoso. Vantajosamente, o suporte poroso é escolhido no grupo
constituído pelas ciclodextrinas e sua mistura. De modo
vantajoso, trata-se da γ-ciclodextrina.

Por «fluido supercrítico» entende-se, no sentido da presente
invenção, qualquer fluido utilizado a uma temperatura e a uma
pressão superior ao seu valor crítico, Vantajosamente, trata-
se do CO₂.

Por «Modo estático» entende-se, no sentido da presente invenção, uma reacção ou um processo no qual todos os reagentes são colocados simultaneamente em presença e em que se deixa a reacção desenrolar-se. Por exemplo, na etapa (b) da presente invenção, coloca-se numa autoclave um pó co-cristalizado, de água e do CO₂ supercrítico, e deixa-se reagir durante 16 horas. A massa de produto não evolui durante a reacção.

Inversamente, em modo dinâmico, os reagentes são trazidos consoante a evolução da reacção ou da produção. Frequentemente, no quadro de um modo dinâmico, há circulação de um fluido ou agitação. A massa de produto evolui durante a produção. No processo da presente invenção, a etapa (a) é tipicamente uma fase dinâmica.

Por «mistura íntima» entende-se, no sentido da presente invenção, uma mistura de A e B na qual A e B se encontram uniformemente repartidos no seio da mistura obtida.

Num modo de realização particular, o processo de acordo com a presente invenção é tal que o suporte poroso é gerado por um fluido supercrítico e que a etapa (a) compreende as etapas seguintes:

(a1) Pôr em solução a substância activa e o suporte poroso num solvente orgânico, sendo o referido solvente orgânico solúvel no fluido supercrítico,

(a2) Pôr em contacto de modo contínuo a solução obtida na etapa (a1) com o referido fluido supercrítico, a fim de dessolvatar de modo controlado a substância activa e o suporte e assegurar a sua co-acervação,

(a3) Lavar o complexo assim formado por extracção do solvente residual com o fluido supercrítico, depois proceder à separação do solvente no estado líquido e do fluido supercrítico no estado gasoso.

Vantajosamente, a etapa (a) consiste numa co-precipitação da substância activa e do suporte poroso pelo processo SAS.

Num outro modo de realização, o processo de acordo com a presente invenção é tal que a substância activa, antes da sua utilização na etapa (a), é gerada pelo processo compreendendo as etapas seguintes:

(i) Pôr em solução a substância activa num solvente orgânico, sendo o referido solvente orgânico solúvel no fluido supercrítico,

(ii) Pôr em contacto de modo contínuo a solução obtida na etapa (i) com o referido fluido supercrítico, a fim de dessolvatar de modo controlado a substância activa e assegurar a sua co-acervação,

(iii) Lavar as partículas da substância activa assim formadas por extracção do solvente residual com o fluido supercrítico, depois proceder à separação do solvente no estado líquido e do fluido supercrítico no estado gasoso.

e tal que o suporte poroso utilizado na etapa (a) está sob forma sólida.

Vantajosamente, a substância activa antes da sua utilização na etapa (a) é gerada por precipitação segundo o processo SAS.

Num terceiro modo de realização, o processo de acordo com a presente invenção é tal que a substância activa, antes da sua utilização na etapa (a), é gerada pelo processo compreendendo as etapas seguintes:

(i) Extrair a substância activa com o fluido supercrítico, eventualmente adicionado por um co-solvente,

(ii) Vaporizar a mistura supercrítica a fim de dessolvatar a substância activa e assegurar a sua co-acervação,

(iii) Lavar as partículas da substância activa assim formadas com o fluido supercrítico, depois eventualmente proceder à separação do co-solvente no estado líquido e do fluido supercrítico no estado gasoso,

e tal que o suporte poroso utilizado na etapa (a) está sob forma sólida.

Vantajosamente, a substância activa antes da sua utilização na etapa (a) é gerada por precipitação segundo o processo RESS.

Num quarto modo de realização, o processo de acordo com a presente invenção é tal que a etapa (a) compreende as etapas seguintes:

(a1) Pôr em solução a substância activa num solvente orgânico, sendo o referido solvente orgânico solúvel no fluido supercrítico,

(a2) Pôr em contacto de modo contínuo a solução assim obtida com o fluido supercrítico, a fim de dessolvatar a

substância activa e assegurar a sua co-acervação sobre o suporte poroso previamente colocado no reactor,

(a3) Lavar o complexo assim formado por extracção do solvente residual com o fluido supercrítico, depois proceder à separação do solvente no estado líquido e do fluido supercrítico no estado gasoso.

Vantajosamente, a etapa (a) consiste na precipitação pelo processo SAS da substância activa sobre o suporte poroso.

Num quinto modo de realização, o processo de acordo com a presente invenção é tal que a etapa (a) compreende as etapas seguintes:

(a1) Extrair a substância activa com um fluido supercrítico, eventualmente adicionado por um co-solvente,

(a2) Vaporizar a mistura supercrítica a fim de dessolvatar a substância activa e assegurar a sua co-acervação sobre o suporte poroso previamente colocado no reactor,

(a3) Lavar o complexo assim formado com o fluido supercrítico, depois eventualmente proceder à separação do co-solvente no estado líquido e do fluido supercrítico no estado gasoso.

Vantajosamente, a etapa (a) consiste na precipitação pelo processo RESS da substância activa sobre o suporte poroso.

De modo vantajoso, o solvente orgânico ou o co-solvente é escolhido no grupo constituído pelos alcoóis, em particular o metanol ou o butanol, as cetonas, em particular a acetona, a metiletilcetona, a ciclo-hexanona ou a N-metilpirrolidona, o ácido acético, o acetato de etilo, o diclorometano, o

acetonitrilo, a dimetilformamida, o dimetilsulfóxido (DMSO) e sua mistura. Vantajosamente, trata-se do etanol ou do dimetilsulfóxido.

De modo vantajoso, a etapa (b) de difusão molecular do processo de acordo com a presente invenção realiza-se sob agitação.

De modo ainda mais vantajoso, a etapa (b) de difusão molecular do processo de acordo com a presente invenção realiza-se na presença de um agente de difusão.

Por «agente de difusão» entende-se, no sentido da presente invenção, qualquer solvente que favoreça uma interacção da substância activa com o suporte.

Vantajosamente, esse agente de difusão é escolhido no grupo constituído pelo álcool, a água com ou sem agente surfactante e suas misturas. De modo ainda mais vantajoso, trata-se de água.

Esse agente de difusão pode ser adicionado em contínuo ou em descontínuo.

O tempo necessário à difusão molecular da etapa (b) é determinado por qualquer método apropriado. Esta etapa (b) pode ser reiterada tantas vezes quanto desejado para obter uma velocidade de dissolução satisfatória. Vantajosamente, a etapa (b) dura cerca de 16 horas.

As condições de pressão e de temperatura da etapa (b) são escolhidas de modo a favorecer a difusão molecular.

Vantajosamente, a pressão do fluido supercrítico está compreendida entre 10 MPa e 40 MPa e a temperatura entre 0 e 120°C.

De modo ainda mais vantajoso, o fluido supercrítico é utilizado a uma pressão compreendida entre 10 MPa e 40 MPa e a uma temperatura entre 0 e 120°C em todas as etapas do processo de acordo com a presente invenção.

Vantajosamente, cada uma das etapas do processo de acordo com a presente invenção realiza-se num reactor fechado, em particular uma autoclave.

De modo vantajoso, o processo de acordo com a presente invenção realiza-se em contínuo.

A presente invenção refere-se a um composto de interacção de uma substância activa pouco solúvel num meio aquoso com um suporte poroso caracterizado por ser susceptível de ser obtido pelo processo de acordo com a presente invenção.

De modo vantajoso, o composto de interacção de acordo com a presente invenção é tal que a substância activa assim complexada apresenta uma solubilidade numa solução aquosa de laurilsulfato de sódio a 5% superior a cerca de 600 µg/ml.

Características físicas dos pós nas diferentes etapas:

Pó de princípio activo obtido por RESS:

- pó extremamente ligeiro e pulverulento,
- tamanho e tipo de cristais mono-dispersos: bastonetes de comprimento de 1-3 µm e de diâmetro 100 a 200 nm,

- densidade aparente de 12 kg/m³.

Pó de princípio activo obtido por SAS:

- pó muito ligeiro e pulverulento,
- tamanho e tipo de cristais mono-dispersos: bastonetes de comprimento de 10-20 µm e de diâmetro 100 nm,
- densidade aparente de 97 kg/m³.

Pó co-cristalizado (princípio activo/ciclodextrina)

- pó fino, ligeiro e pulverulento,
- densidade aparente de 176 kg/m³.

Pó co-cristalizado, maturado (princípio activo/ciclodextrina)

- pó denso e não pulverulento,
- densidade aparente de 639 kg/m³.

Outros objectos e vantagens da invenção tornar-se-ão evidentes para o perito a partir da descrição detalhada abaixo e por via de referências aos desenhos ilustrativos seguintes.

A figura 1 representa uma foto MEB com uma ampliação de 1000x do produto F12511 obtido após cristalização e secagem por via clássica.

A figura 2 representa uma foto MEB com uma ampliação de 2000x do produto F12511 obtido após cristalização e secagem por via clássica.

A figura 3 representa uma foto MEB com uma ampliação de 1000x do complexo obtido após co-precipitação pelo

processo SAS e lavagem com CO₂ supercrítico de uma solução do produto F12511 e de γ -ciclodextrina em DMSO.

A figura 4 representa uma foto MEB com uma ampliação de 2000x do complexo obtido após co-precipitação pelo processo SAS e lavagem com CO₂ supercrítico de uma solução do produto F12511 e de γ -ciclodextrina em DMSO.

A figura 5 representa uma foto MEB com uma ampliação de 1000x do mesmo complexo que o das figuras 3 e 4 após 16 horas de difusão molecular em meio supercrítico, na presença de água.

A figura 6 representa uma foto MEB com uma ampliação de 2000x do mesmo complexo que o das figuras 3 e 4 após 16 horas de difusão molecular em meio supercrítico, na presença de água.

A figura 7 representa um histograma da biodisponibilidade do produto F12511 segundo a formulação utilizada (composto de interacção com a γ -ciclodextrina, de acordo com o processo da presente invenção, ou produto F12511 cristalizado) no cão.

O processo de acordo com a invenção compreende nomeadamente uma etapa de difusão molecular em meio supercrítico que permite uma forte interacção das partículas de substância activa no suporte considerado, como mostram as fotos realizadas ao microscópico de varrimento electrónico (figuras 1 a 6). Pode ver-se nessas fotos que a estrutura do composto é totalmente modificada no decurso da difusão. Além disso, a dissolução em meio aquoso é igualmente modificada.

Assim, o composto de acordo com as figuras 1 e 2 tem uma solubilidade ao fim de 2 horas de 6 μ g/ml numa solução aquosa a 5% de laurilsulfato de sódio.

O complexo segundo as figuras 3 e 4 tem uma solubilidade ao fim de 2 horas de 86 µg/ml numa solução aquosa a 5% de laurilsulfato de sódio.

O complexo segundo as figuras 5 e 6 tem uma solubilidade ao fim de 2 horas de 516 µg/ml numa solução aquosa a 5% de laurilsulfato de sódio.

O objectivo procurado no decorrer desta etapa de difusão é o de melhorar a dissolução das micro-partículas de substância activa.

A etapa seguinte que é uma etapa de lavagem com fluido supercrítico permite ainda aumentar a velocidade de dissolução do composto de interacção da substância activa no suporte poroso.

A dissolução ao fim de duas horas num meio aquoso é multiplicada por cerca de 100 pelo processo de acordo com a presente invenção.

Os exemplos seguintes de realização do processo são dados a título indicativo não limitativo.

Protocolos de análise dos pós

Testes de dissolução do produto F12511

Condições operatórias:

Detector espectrofotométrico regulado a 220 nm.

Coluna de enxerto C8 (Lichrospher 60RP-Select B), dimensões 25 x 0,4 cm, granulometria: 5 µm.

Fase móvel:

* Acetonitrilo	820 ml
* Água purificada	180 ml
* Ácido acético glacial	1 ml

Débito: 1 ml/min

Preparação das soluções:

Solução a examinar

Introduzir uma quantidade de complexo correspondente a cerca de 100 mg do produto F12511 em 100 ml de laurilsulfato de sódio a 5% (m/V) em H₂O. Colocar sob agitação num banho-maria a 37°C ± 0,5°C. Retirar 2 ml desta suspensão após 2 horas de agitação e filtrar sobre filtro GELMAN GHP ACRODISC GF (R).

Diluir as tomas para 1/5 na fase móvel.

Efectuar 2 ensaios.

Solução testemunha

Introduzir 8 mg do produto F12511 de referência (matéria prima que serviu para o fabrico do complexo) num balão de 100 ml, dissolver em 1 ml de tetra-hidrofurano (THF).

Completar o volume com a fase móvel.

Gama

	T1	T2	T3	T4	T5
Solução testemunha (ml)	0,5	1,5	2,0	3,0	4,0
Fase móvel	qsp 20 ml				
Concentração (µg/ml)	2,0	6,0	8,0	12,0	16,0

Realização do ensaio:

Injectar 20 µl de cada solução testemunha. Medir a área do pico do produto F12511 e representar graficamente a sua variação em função da concentração. O coeficiente de correlação é > 0,995. Injectar 20 µl da solução de ensaio. Medir a área do pico do produto F12511 presente na solução de ensaio e assegurar-se que ela está compreendida entre a de T1 e de T5 da gama.

No caso contrário, efectuar uma diluição no solvente de solubilização e/ou ajustar o volume de injeção da solução de ensaio.

Deduzir a concentração X (µg/ml) da solução de ensaio.

Calcular a quantidade do produto F12511 solubilizado em mg/ml pela fórmula:

$$\frac{X \times 20 \times F \times 5}{1000 \times Y}$$

Y: volume de injeção da solução de ensaio

F: factor de diluição

Medidas de superfícies específicas

Efectuaram-se as medidas de superfície específica num aparelho de adsorção BET ASAP 2010, Micrometrics.

Preparação da amostra

Antes da fase de medida, a amostra necessita de uma etapa de desgasificação. Esta etapa consiste em fazer o vácuo na célula contendo a amostra até que se atinja pelo menos um vácuo de 0,003 mmHg (0,399 Pa), ou seja 0,004 mbar, aproximadamente, e isto de maneira estável. Esta desgasificação realiza-se a uma temperatura de 50°C (duração: cerca de 16 horas).

Para a desgasificação, a célula contendo a amostra é cheia de hélio e transferida para o posto de medida onde se refaz o vácuo antes da análise.

Exploração das isotérmicas de adsorção

A determinação da superfície específica foi feita segundo a teoria BET, ou seja segundo a relação:

$$\frac{1}{W \cdot [(P/P_0) - 1]} = \frac{1}{C W_m} + \frac{C-1}{W \cdot m \cdot C} \cdot (P/P_0)$$

W: volume de gás adsorvido (nas condições padrão de temperatura e de pressão (STP)) por unidade de massa de amostra.

W_m: volume de gás adsorvido (nas condições STP) numa monocamada por unidade de massa de amostra.

P₀: pressão de saturação.

C: constante.

Traça-se de novo a isotérmica segundo:

$$\frac{1}{W \cdot [(P_0/P) - 1]}$$

Em função de P/P_0 : temos então uma recta cujo declive e ordenada na origem nos dá C e W_m .

A superfície específica é então dada pela fórmula:

$$a \text{ (m}^2 \cdot \text{g}^{-1}) = N_m N_A E$$

E: saturação da molécula de azoto. Considera-se geralmente para o azoto a 77

K, temperatura operatória, $E = 0,162 \text{ nm}^2$.

N_A : número de Avogadro.

N_m : número de moles de azoto adsorvidos sobre uma monocamada por unidade de massa de amostra, calculado a partir de W_m .

As medidas são realizadas num domínio clássico de pressão relativa onde a teoria BET é válida, ou seja $0,05 < P/P_0 < 0,2$. Para verificar a validade desta teoria, uma meio prático é de ver em que sentido evolui a quantidade $N_{\text{adsorvido}} \cdot (1 - P/P_0)$ em função de P/P_0 : ela deve aumentar continuamente com P/P_0 . Verificar desta maneira o domínio de aplicabilidade da teoria BET e reajustar, se for necessário, o domínio das pressões relativas.

Exemplo comparativo 1: precipitação por SAS / DMSO do produto F12511

Precipita-se em contínuo uma solução de 150 ml, de concentração: 115 g/l, do produto F12511 no DMSO pelo processo Solvente-Anti-Solvente (SAS) na presença de CO_2 ,

numa autoclave de 2 l munida de um contentor de 1,37 l. O débito da bomba de solvente é de 0,6 ml/min. A temperatura e a pressão no seio da autoclave são escolhidas para obter uma densidade de CO₂ igual a 0,8. Após se ter precipitado cerca de 130 ml da solução, param-se as injeções de soluto, depois de CO₂, e procede-se à lavagem por passagem de um fluxo de CO₂ (300 bars (30 MPa), 50°C) durante 3 horas. A autoclave é em seguida despressurizada. O rendimento desta etapa é de 87%.

Natureza do pó	Dissolução (µg/ml)	BET (m ² /g)
F12511	6-12	14
F12511 precipitado por SAS	62	54

Exemplo comparativo 2: precipitação por RESS do produto F12511

Colocam-se 10 g de produto F12511 numa autoclave e extrai-se com CO₂ supercrítico a 100°C, 265 bars (26,5 MPa). Precipita-se então o fluido num segundo recipiente e recupera-se 0,6 g de produto F12511. Mede-se a dissolução ao fim de duas horas, bem como a superfície específica:

Natureza do pó	Dissolução (µg/ml)	BET (m ² /g)
F12511	12	14
F12511 precipitado por RESS	76	67

Exemplo comparativo 3: co-precipitação do produto F12511 e da γ-ciclodextrina por SAS / DMSO

Precipita-se em contínuo uma solução de 150 ml de produto F12511 (concentração: 57,5 g/l) e de γ -ciclodextrina (concentração: 172,5 g/l) no DMSO pelo processo Solvente-Anti-Solvente (SAS) na presença de CO₂, numa autoclave de 2 l munida de um contentor de 1,37 l. O débito da bomba de solvente é de 0,4 ml/min. A temperatura e a pressão no seio da autoclave são escolhidas para obter uma densidade de CO₂ igual a 0,9. Após se ter precipitado cerca de 100 ml da solução, param-se as injeções do soluto, depois de CO₂, e procede-se à lavagem do pó obtido por passagem de um fluxo de CO₂ (300 bars (30 MPa), 50°C) durante 2 horas. A autoclave é em seguida despressurizada.

O rendimento desta etapa é de 81%.

Os resultados das medições estão reunidos na tabela abaixo:

Natureza do pó	Dissolução (μ g/ml)
F12511	12
F12511 co-precipitado por SAS/DMSO	100

Exemplo 4: co-precipitação, inclusão e lavagem a partir de uma solução do produto F12511 e de γ -ciclodextrina no DMSO

Precipita-se em contínuo uma solução de 450 ml do produto F12511 (concentração: 40 g/l) e de γ -ciclodextrina (concentração: 240 g/l) no DMSO pelo processo Solvente-Anti-Solvente (SAS) na presença de CO₂, numa autoclave de 6 l munida de um contentor de 4 l. O débito da bomba de solvente é de 1,1 ml/min. A temperatura e a pressão no seio da autoclave são escolhidas para obter uma densidade de CO₂

igual a $0,9 \pm 0,05$. Após se ter precipitado cerca de 450 ml da solução, param-se as injeções do soluto, depois de CO₂, e procede-se à expansão da instalação, de modo a não fundir o fluido supercrítico.

O rendimento médio desta etapa é de 94%.

Mistura-se o pó co-precipitado na etapa precedente com água que sofreu osmose (razão mássica de 25% de água) e coloca-se a mistura no contentor *poral* de 4 l, ele próprio depositado na autoclave de precipitação 6 l.

Fecha-se a autoclave e enche-se a instalação de CO₂ supercrítico de modo a ter uma pressão estática de 300 bars (30 MPa) e uma temperatura de 65°C no seio da autoclave.

Procede-se expansão suave após uma noite de difusão molecular e reitera-se esta etapa sem adição de agente de difusão (água) durante uma noite.

Depois, procede-se à lavagem do complexo assim obtido por fluxo de CO₂ (270 bars (27 MPa), 40°C) durante 8 horas. Efectua-se após expansão uma medida de dissolução sobre o pó obtido.

Natureza do pó	Dissolução (µg/ml)
F12511 antes da co-precipitação	~15
Composto F12511/γ-ciclodextrina após difusão molecular	440
Composto F12511/γ-ciclodextrina após difusão molecular e lavado	662

Estes resultados demonstram o interesse de um processo que associa a co-precipitação, a inclusão e a lavagem em meio supercrítico para melhorar a dissolução em meio aquoso do princípio activo.

Realizaram-se ensaios farmacocinéticos no cão usando um composto de interacção F12511/ γ -ciclodextrina obtido por este processo. Administraram-se doses normalizadas de 3 mg/kg a 5 cães e mediu-se a concentração plasmática (expressa em ng/ml.h) em F12511. Os resultados referentes ao F12511, obtido após cristalização e secagem por via clássica, e os referentes ao composto de interacção F12511/ γ -ciclodextrina, obtido pelo processo descrito acima, estão representados no histograma da figura 7.

Constata-se que a administração de doses preparadas a partir do composto de interacção F12511/ γ -ciclodextrina obtido pelo processo de acordo com a presente invenção permitem melhorar a biodisponibilidade no cão de um factor 10.

Exemplo comparativo 5: precipitação e inclusão na γ -ciclodextrina do produto F12511 gerado pelo processo SAS / Etanol

Precipita-se em contínuo uma solução de 8 l do produto F12511 (concentração: 5 g/l) no etanol pelo processo Solvente-Anti-Solvente (SAS) na presença de CO₂, numa autoclave de 6I munida de um contentor de 4I. O débito da bomba de solvente é de 41,7 ml/min. A temperatura e a pressão no seio da autoclave são escolhidas para obter uma densidade de CO₂ igual a 0,8. Após se ter precipitado cerca de 8 l da solução, param-se as injeções do soluto, depois de CO₂, e procede-se

à expansão suave da instalação, de modo a não fundir o fluido supercrítico.

Misturam-se 4,3 g da substância activa precipitada na etapa precedente com 25,8 g de γ -ciclodextrina e 10 g de água que sofreu osmose e coloca-se a mistura no contentor *poral* de 4 l, ele próprio depositado na autoclave de precipitação de 6 l.

Fecha-se a autoclave e enche-se a instalação de CO₂ supercrítico de modo a ter uma pressão estática de 300 bars (30 MPa) e uma temperatura de 65°C no seio da autoclave.

Procede-se à expansão suave após 16 horas de difusão molecular.

Natureza do pó	Dissolução (em $\mu\text{g/ml}$)
F12511 antes da precipitação	~15
F12511 precipitado por CO ₂ supercrítico	80
Composto F12511/ γ -ciclodextrina após difusão molecular	155

Exemplo comparativo 6: precipitação e inclusão na γ -ciclodextrina do produto F12511 gerado pelo processo SAS / DMSO

Precipita-se em contínuo uma solução de 150 ml do produto F12511 (concentração: 200 g/l) no DMSO pelo processo Solvente-Anti-Solvente (SAS) na presença de CO₂, numa autoclave de 2 I munida de um contentor de 1,37 I. O débito

da bomba de solvente é de 0,5 ml/min. A temperatura e a pressão no seio da autoclave são escolhidas para obter uma densidade de CO₂ igual a 0,9. Após se ter precipitado cerca de 135 ml de solução, param-se as injeções do soluto, depois de CO₂, e procede-se à expansão suave da instalação, de modo a não fundir o fluido supercrítico.

Mistura-se 1 g da substância activa precipitada na etapa precedente com 6 g de γ -ciclodextrina e 2,33 g de água que sofreu osmose e coloca-se a mistura no contentor *poral* de 1,37 l, ele próprio depositado na autoclave de precipitação de 2 l.

Fecha-se a autoclave e enche-se a instalação de CO₂ supercrítico de modo a ter uma pressão estática de 300 bars (30 MPa) e uma temperatura de 100°C no seio da autoclave.

Procede-se à expansão suave após 16 horas de difusão molecular.

Natureza do pó	Dissolução (em $\mu\text{g/ml}$)
F12511 antes da precipitação	5
F12511 precipitado por CO ₂ supercrítico	57
Composto F12511/ γ -ciclodextrina após difusão molecular	165

Exemplo comparativo 7: Inclusão na γ -ciclodextrina do produto F12511 gerado pelo processo RESS

Colocam-se 40 g do produto F12511 num contentor de 4 l, ele próprio depositado na autoclave de precipitação de 6 l.

Extrai-se a substância activa com uma mistura supercrítica de CO₂ e de etanol (5% mássica) e precipita-se a substância a 120 bars (12 MPa) e 55°C. Após 3 horas, param-se as injeções de CO₂ e de etanol.

Misturam-se 8,96 g da substância activa precipitada na etapa precedente com 53,76 g de γ -ciclodextrina e 20,87 g de água que sofreu osmose e coloca-se a mistura no contentor *poral* de 4 l, ele próprio depositado na autoclave de precipitação de 6 l.

Fecha-se a autoclave e enche-se a instalação de CO₂ supercrítico de modo a ter uma pressão estática de 300 bars (30 MPa) e uma temperatura de 65°C no seio da autoclave.

Procede-se à expansão suave após 16 horas de difusão molecular.

Natureza do pó	Dissolução (em $\mu\text{g/ml}$)
F12511 antes da precipitação	~10
F12511 precipitado por CO ₂ supercrítico	8
Composto F12511/ γ -ciclodextrina após difusão molecular	292

Exemplo comparativo 8: Inclusão na γ -ciclodextrina do produto L0081 por difusão molecular agitada

Misturam-se 4,0 g do produto L0081, 24,0 g de γ -ciclodextrina e 9,3 g de água.

Coloca-se a mistura assim obtida no fundo de uma autoclave agitada de 1 litro. Fecha-se hermeticamente a autoclave e enche-se a 300 bars (30 MPa) com CO₂ em estado supercrítico. Fixa-se a temperatura de 50°C ± 10°C. Liga-se a agitação (400 vt/min), mantêm-se a pressão e a temperatura durante uma noite. Após uma noite, desliga-se o aquecimento e a agitação e despressuriza-se lentamente a autoclave. Recupera-se a totalidade do pó e procede-se a testes de dissolução que se comparam com os do pó obtido nas mesmas condições mas sem agitação:

Natureza do pó	Dissolução (em µg/ml)
Composto L0081/γ-ciclodextrina após difusão molecular sem agitação	124
Composto L0081/γ-ciclodextrina após difusão molecular com agitação	334

Resumo dos resultados

A tabela abaixo resume os diferentes processos utilizados bem como os resultados de dissolução correspondentes e permite deduzir o processo mais adaptado ao fabrico do produto F12511 de dissolução elevada em meio aquoso:

Processo	Comp. Ex. 1	Comp. Ex. 2	Comp. Ex. 3	Ex. 4	Ex. 4	Comp. Ex. 5	Comp. Ex. 5
Precipitação* por RESS		X					
Precipitação* por SAS / DMSO	X						
Co-precipitação** por SAS / DMSO			X	X	X		
Precipitação* por SAS / EtOH						X	X
Cristalização clássica							
Difusão molecular agitada							
Difusão molecular não agitada				X	X		X
Lavagem	X		X		X		
Dissolução (µg/ml)	62	76	100	440	662	80	155

Processo	Comp. Ex. 6	Comp. Ex. 6	Comp. Ex. 7	Comp. Ex. 7	Comp. Ex. 8	Comp. Ex. 8
Precipitação* por RESS			X	X		
Precipitação* por SAS / DMSO	X	X				
Co-precipitação** por SAS / DMSO						
Precipitação* por SAS / EtOH						
Cristalização clássica					X	X
Difusão molecular agitada						X
Difusão molecular não agitada		X		X		X
Lavagem	X					
Dissolução (µg/ml)	57	165	8	292	124	334

* Precipitação do produto F12511 sozinho

** Co-precipitação de uma solução do produto F12511 e de γ -ciclodextrina

Vendo estes resultados, é claro que o processo que permite obter a dissolução mais importante do produto F12511 num meio aquoso é o processo que combina as etapas de geração do produto F12511 por fluido supercrítico, vantajosamente por co-precipitação do produto F12511 e da γ -ciclodextrina, difusão molecular em modo estático, vantajosamente sob agitação, lavagem.

Ensaio comparativos 9:

A fim de validar o facto de ser o processo completo que nos permite obter os resultados finais e não uma das etapas intermédias, realizámos testes de dissolução como descrito anteriormente sobre diferentes misturas e obtivemos os seguintes resultados:

	Antes da difusão	Após difusão
F12511/γ-ciclodextrina Pós em bruto Mistura física	19 $\mu\text{g/ml}$	142 $\mu\text{g/ml}$
F12511/γ-ciclodextrina Pós cristalizados por SAS Separadamente Mistura física	69 $\mu\text{g/ml}$	150 $\mu\text{g/ml}$
F12511/γ-ciclodextrina Pós co-cristalizados	100 $\mu\text{g/ml}$	671 $\mu\text{g/ml}$

Ensaio com outras substâncias activas, com outros suportes e com outros solventes:

A fim de validar os resultados obtidos com o F12511, testaram-se diferentes moléculas pertencendo a diferentes classes terapêuticas:

Princípio Activo	Classe terapêutica
Ketoprofeno	Anti-inflamatório
Omeprazole	Anti-ulceroso
Simvastatina	Hipo-Colesterolemiantes
Terfenadina	Anti-histamínico

Condições operatórias de fabrico dos pós estudados:

Aplica-se o processo seguinte para cada um dos pós estudados:

- Colocação em solução do princípio activo e da ciclodextrina estudados no solvente
- Mistura íntima do princípio activo e da ciclodextrina estudados por SAS na presença de CO₂ supercrítico
- Secagem do pó obtido
- Recolha de uma amostra (em certos casos)
- Mistura do pó com água que sofreu osmose, depois inclusão sob CO₂ à pressão supercrítica
- Secagem do pó obtido
- Recolha de uma amostra

Os testes sobre estas novas moléculas realizaram-se com diferentes solventes e diferentes tipos de suporte. Os diferentes ensaios realizados são retomados na tabela seguinte:

Princípio Activo	Ciclodextrina	Solvente	Concentração em princípio activo (g/l)
Ketoprofeno	β	DMSO	25
Omeprazole	γ	DMSO	33
	γ	DMF	30
Simvastatina	γ	DMSO	25
	γ	DMF	15
Terfenadina	β	DMSO	16
	β	DMF	30
	Metil- β	Etanol	8

Exemplo 10: ketoprofeno/ β -ciclodextrina/DMSO

Parâmetros operatórios:

Mistura	
Duração (h)	2
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Razão Molar CO ₂ /solvente	400
Débito da solução (ml/min)	1

Secagem	
Duração (h)	1
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Débito de CO ₂ (kg/h)	15
Inclusão	
Adição de água (% massa total)	25
Duração (h)	16
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	333

Protocolo de análise dos produtos: Teste de dissolução

Condições operatórias:

Análise UV no comprimento de onda de 260 nm.

Solução testemunha:

Preparar uma solução padrão em H₂O. Assegurar a manutenção de uma absorvância <2.

Realização da análise:

Preparar 50 ml de uma solução de Ketoprofeno em água introduzindo uma quantidade de pó equivalente a 50 mg de princípio activo.

Deixar dissolver sob agitação magnética com barra de íman num banho-maria a 37±0,5°C.

Retirar 2 ml desta suspensão após 2 horas de agitação e filtrar sobre filtro GELMAN GHP 0,45 μm .

Efectuar a análise UV assegurando-se que a absorvância é inferior a 2. Em caso contrário, efectuar uma diluição.

Resultado obtido:

Após 2 horas de dissolução, as concentrações ($\mu\text{g/ml}$) medidas são:

Princípio activo sozinho	Pó após processo completo
333	923

Exemplo 11: Omeprazole / γ -ciclodextrina / DMSO

Parâmetros operatórios:

Mistura	
Duração (h)	2
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Razão Molar CO ₂ /solvente	400
Débito da solução (ml/min)	1
Secagens	
Duração (h)	1
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Débito de CO ₂ (kg/h)	15

Inclusão	
Adição de água (% massa total)	25
Duração (h)	16
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	333

Protocolo de análise dos produtos: Teste de dissolução

Condições operatórias:

Análise UV no comprimento de onda de 296 nm.

Solução testemunha:

Preparar uma solução padrão em laurilsulfato de sódio a 1% (m/V) em H₂O. Assegurar a manutenção de uma absorvância <2.

Realização da análise:

Preparar 50 ml de uma solução de Omeprazole em água introduzindo uma quantidade de pó equivalente a 50 mg de princípio activo.

Deixar dissolver sob agitação magnética com barra de íman num banho-maria a 37±0,5°C.

Retirar 2 ml desta suspensão após 2 horas de agitação e filtrar sobre filtro GELMAN GHP 0,45 µm.

Efectuar a análise UV assegurando-se que a absorvância é inferior a 2. Em caso contrário, efectuar uma diluição.

Resultado obtido:

Após 2 horas de dissolução, as concentrações ($\mu\text{g/ml}$) medidas são:

Princípio activo sozinho	Pó após processo completo
91	129

Exemplo 12: Omeprazole / γ -ciclodextrina / DMF

Parâmetros operatórios:

Mistura	
Duração (h)	2
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Razão Molar CO ₂ /solvente	400
Débito da solução (ml/min)	1
Secagens	
Duração (h)	1
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Débito de CO ₂ (kg/h)	15

Inclusão	
Adição de água (% massa total)	25
Duração (h)	16
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	333

Protocolo de análise dos produtos: Teste de dissolução

Condições operatórias:

Análise UV no comprimento de onda de 296 nm.

Solução testemunha:

Preparar uma solução padrão em laurilsulfato de sódio a 1% (m/V) em H₂O. Assegurar a manutenção de uma absorvância <2.

Realização da análise:

Preparar 50 ml de uma solução de Omeprazole em água introduzindo uma quantidade de pó equivalente a 50 mg de princípio activo.

Deixar dissolver sob agitação magnética com barra de íman num banho-maria a 37±0,5°C.

Retirar 2 ml desta suspensão após 2 horas de agitação e filtrar sobre filtro GELMAN GHP 0,45 µm.

Efectuar a análise UV assegurando-se que a absorvância é inferior a 2. Em caso contrário, efectuar uma diluição.

Resultado obtido:

Após 2 horas de dissolução, as concentrações ($\mu\text{g/ml}$) medidas são:

Princípio activo sozinho	Pó após processo completo
91	216

Exemplo 13: Simvastatina / γ -ciclodextrina / DMSO:

Parâmetros operatórios:

Mistura	
Duração (h)	2
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Razão Molar CO ₂ /solvente	400
Débito da solução (ml/min)	1
Secagens	
Duração (h)	1
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Débito de CO ₂ (kg/h)	15

Inclusão	
Adição de água (% massa total)	25
Duração (h)	16
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	333

Protocolo de análise dos produtos: Teste de dissolução

Condições operatórias:

Análise UV no comprimento de onda de 248 nm.

Solução testemunha:

Preparar uma solução padrão em laurilsulfato de sódio a 1% (m/V) em H₂O.

Assegurar a manutenção de uma absorvância <2.

Realização da análise:

Preparar 50 ml de uma solução de Simvastatina em água introduzindo uma quantidade de pó equivalente a 50 mg de princípio activo.

Deixar dissolver sob agitação magnética com barra de íman num banho-maria a 37±0,5°C.

Retirar 2 ml desta suspensão após 2 horas de agitação e filtrar sobre filtro GELMAN GHP 0,45 µm.

Efectuar a análise UV assegurando-se que a absorvância é inferior a 2. Em caso contrário, efectuar uma diluição.

Resultado obtido:

Após 2 horas de dissolução, as concentrações ($\mu\text{g/ml}$) medidas são:

Princípio activo sozinho	Pó após mistura	Pó após processo completo
<1	23	300

Exemplo 14: Simvastatina / γ -ciclodextrina / DMF:

Parâmetros operatórios:

Mistura	
Duração (h)	2
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Razão Molar CO ₂ /solvente	400
Débito da solução (ml/min)	1
Secagens	
Duração (h)	1
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Débito de CO ₂ (kg/h)	15

Inclusão	
Adição de água (% massa total)	25
Duração (h)	16
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	333

Protocolo de análise dos produtos: Teste de dissolução

Condições operatórias:

Análise UV no comprimento de onda de 248 nm.

Solução testemunha:

Preparar uma solução padrão em laurilsulfato de sódio a 1% (m/V) em H₂O. Assegurar a manutenção de uma absorvância <2.

Realização da análise:

Preparar 50 ml de uma solução de Simvastatina em água introduzindo uma quantidade de pó equivalente a 50 mg de princípio activo.

Deixar dissolver sob agitação magnética com barra de íman num banho-maria a 37±0,5°C.

Retirar 2 ml desta suspensão após 2 horas de agitação e filtrar sobre filtro GELMAN GHP 0,45 µm.

Efectuar a análise UV assegurando-se que a absorvância é inferior a 2. Em caso contrário, efectuar uma diluição.

Resultado obtido:

Após 2 horas de dissolução, as concentrações ($\mu\text{g/ml}$) medidas são:

Princípio activo sozinho	Pó após mistura	Pó após processo completo
<1	13	212

Exemplo 15: Terfenadina / β -ciclodextrina / DMSO:

Parâmetros operatórios:

Mistura	
Duração (h)	2
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Razão Molar CO ₂ /solvente	400
Débito da solução (ml/min)	1 a 1,2
Secagens	
Duração (h)	1
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Débito de CO ₂ (kg/h)	15

Inclusão	
Adição de água (% massa total)	25
Duração (h)	16
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	333

Protocolo de análise dos produtos: Teste de dissolução:

Condições operatórias:

Análise UV no comprimento de onda de 259 nm.

Solução testemunha:

Preparar uma solução padrão em laurilsulfato de sódio a 1% (m/V) em H₂O. Assegurar a manutenção de uma absorvância <2.

Realização da análise:

Preparar 50 ml de uma solução de Terfenadina em água introduzindo uma quantidade de pó equivalente a 50 mg de princípio activo.

Deixar dissolver sob agitação magnética com barra de íman num banho-maria a 37±0,5°C.

Retirar 2 ml desta suspensão após 2 horas de agitação e filtrar sobre filtro GELMAN GHP 0,45 µm.

Efectuar a análise UV assegurando-se que a absorvância é inferior a 2. Em caso contrário, efectuar uma diluição.

Resultado obtido:

Após 2 horas de dissolução, as concentrações ($\mu\text{g/ml}$) medidas são:

Princípio activo sozinho	Pó após mistura	Pó após processo completo
<1	290	990

Exemplo 16: Terfenadina / β -ciclodextrina / DMF:

Parâmetros operatórios:

Mistura	
Duração (h)	2
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Razão Molar CO ₂ /solvente	400
Débito da solução (ml/min)	1 a 1,2
Secagens	
Duração (h)	1
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Débito de CO ₂ (kg/h)	15
Inclusão	
Adição de água (% massa total)	25
Duração (h)	16
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	333

Protocolo de análise dos produtos: Teste de dissolução

Condições operatórias:

Análise UV no comprimento de onda de 259 nm.

Solução testemunha:

Preparar uma solução padrão em laurilsulfato de sódio a 1% (m/V) em H₂O.

Assegurar a manutenção de uma absorvância <2.

Realização da análise:

Preparar 50 ml de uma solução de Terfenadina em água introduzindo uma quantidade de pó equivalente a 50 mg de princípio activo.

Deixar dissolver sob agitação magnética com barra de íman num banho-maria a 37±0,5°C.

Retirar 2 ml desta suspensão após 2 horas de agitação e filtrar sobre filtro GELMAN GHP 0,45 µm.

Efectuar a análise UV assegurando-se que a absorvância é inferior a 2. Em caso contrário, efectuar uma diluição.

Resultado obtido:

Após 2 horas de dissolução, as concentrações (µg/ml) medidas são:

Princípio activo sozinho	Pó após processo completo
<1	323

Exemplo 17: Terfenadina / Metil- β -ciclodextrina / Etanol:

Parâmetros operatórios:

Mistura	
Duração (h)	2
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Razão Molar CO ₂ /solvente	400
Débito da solução (ml/min)	1 a 1,2
Secagens	
Duração (h)	1
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	313
Débito de CO ₂ (kg/h)	15
Inclusão	
Adição de água (% massa total)	25
Duração (h)	16
Pressão (MPa)	15
Temperatura (K)	333

Protocolo de análise dos produtos: Teste de dissolução

Condições operatórias:

Análise UV no comprimento de onda de 259 nm.

Solução testemunha:

Preparar uma solução padrão em laurilsulfato de sódio a 1% (m/V) em H₂O. Assegurar a manutenção de uma absorvância < 2.

Realização da análise:

Preparar 50 ml de uma solução de Terfenadina em água introduzindo uma quantidade de pó equivalente a 50 mg de princípio activo.

Deixar dissolver sob agitação magnética com barra de íman num banho-maria a 37±0,5°C.

Retirar 2 ml desta suspensão após 2 horas de agitação e filtrar sobre filtro GELMAN GHP 0,45 µm.

Efectuar a análise UV assegurando-se que a absorvância é inferior a 2. Em caso contrário, efectuar uma diluição.

Resultado obtido:

Após 2 horas de dissolução, as concentrações (µg/ml) medidas são:

Princípio activo sozinho	Pó após mistura	Pó após processo completo
<1	420	552

A tabela seguinte reúne os diferentes resultados de dissolução ($\mu\text{g/ml}$) obtidos para todas as moléculas testadas:

			Dissolução em 2 horas		
MOLECULA	SOLVENTE	CICLO	Princípio Activo sozinho	Pó após cristalização	Pó após processo completo
F12511	DMSO	β	12	100	662
Ketoprofeno	DMSO	β	333	X	923
Omeprazole	DMSO	γ	91	X	129
	DMF	γ	91	X	216
Simvastatina	DMSO	γ	<1	23	300
	DMF	γ	<1	13	212
Terfenadina	DMSO	β	<1	290	990
	DMF	β	<1	X	323
	Etanol	Metil $-\beta$	<1	420	552

NB: os casos indicados com X correspondem a amostras não retiradas

Vendo estes resultados, é claro que o processo que permite obter a dissolução mais importante dos princípios activos num meio aquoso é o que combina as etapas de mistura de princípio activo e de suporte poroso, vantajosamente γ -ciclodextrina, de difusão molecular e de secagem. Esta propriedade observa-se para diferentes princípios activos, diferentes tipos de ciclodextrinas e diferente solventes.

29-01-2008

REIVINDICAÇÕES

1. Processo de preparação de compostos de interacção de uma substância activa pouco solúvel num meio aquoso com um suporte poroso, caracterizado por compreender as etapas seguintes:

- (a) Misturar a substância activa gerada por fluido supercrítico e a quantidade determinada de suporte poroso,
- (b) Realizar uma etapa de difusão molecular por colocação em contacto em modo estático de um fluido supercrítico com a mistura obtida na etapa (a) durante o tempo necessário para melhorar a dissolução num meio aquoso da mistura obtida na etapa (a),
- (c) Lavar o composto de interacção obtido na etapa (b) com um fluxo de fluido supercrítico,
- (d) Recuperar as partículas do composto de interacção assim formado,

2. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o suporte poroso ser gerado por um fluido supercrítico e por a etapa (a) compreender as etapas seguintes:

- (a1) Pôr em solução a substância activa e o suporte poroso num solvente orgânico, sendo o referido solvente orgânico solúvel no fluido supercrítico,
- (a2) Pôr em contacto de modo contínuo a solução obtida na etapa (a1) com o referido fluido supercrítico, a fim de dessolvatar de modo controlado a substância activa e o suporte, e assegurar a sua co-acervação,
- (a3) Lavar o complexo assim formado por extracção do solvente residual com o fluido supercrítico, depois

proceder à separação do solvente no estado líquido e do fluido supercrítico no estado gasoso.

3. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a substância activa, antes da sua utilização na etapa (a), ser gerada pelo processo compreendendo as etapas seguintes:

(i) Pôr em solução a substância activa num solvente orgânico, sendo o referido solvente orgânico solúvel no fluido supercrítico,

(ii) Pôr em contacto de modo contínuo a solução obtida na etapa (i) com o referido fluido supercrítico, a fim de dessolvatar a substância activa, e assegurar a sua co-acervação,

(iii) Lavar as partículas da substância activa assim formadas por extracção do solvente residual com o referido fluido supercrítico, depois proceder à separação do solvente no estado líquido e do fluido supercrítico no estado gasoso,

e por o suporte poroso utilizado na etapa (a) estar sob forma sólida.

4. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a substância activa, antes da sua utilização na etapa (a), ser gerada pelo processo compreendendo as etapas seguintes:

(i) Extrair a substância activa com o fluido supercrítico, eventualmente adicionado por um co-solvente,

(ii) Vaporizar a mistura supercrítica a fim de dessolvatar a substância activa e assegurar a sua co-acervação,

(iii) Lavar as partículas da substância activa assim formadas com o fluido supercrítico, depois eventualmente proceder à separação do co-solvente no estado líquido e do fluido supercrítico no estado gasoso,

e por o suporte poroso utilizado na etapa (a) estar sob forma sólida.

5. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a etapa (a) compreender as etapas seguintes:

(a1) Pôr em solução a substância activa num solvente orgânico, sendo o referido solvente orgânico solúvel no fluido supercrítico,

(a2) Pôr em contacto de modo contínuo a solução assim obtida com o fluido supercrítico, a fim de dessolvatar a substância activa, e assegurar a sua co-acervação sobre o suporte poroso previamente colocado no reactor,

(a3) Lavar o complexo assim formado por extracção do solvente residual com o fluido supercrítico, depois proceder à separação do solvente no estado líquido e do fluido supercrítico no estado gasoso.

6. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a etapa (a) compreender as etapas seguintes:

(a1) Extrair a substância activa com um fluido supercrítico, eventualmente adicionado com um co-solvente,

(a2) Vaporizar a mistura supercrítica, a fim de dessolvatar a substância activa, e assegurar a sua co-acervação sobre o suporte poroso previamente colocado no reactor,

(a3) Lavar o complexo assim formado com o fluido supercrítico, depois eventualmente proceder à separação do co-solvente no estado líquido e do fluido supercrítico no estado gasoso.

7. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 2 a 6, caracterizado por o solvente orgânico ou o co-solvente ser escolhido no grupo constituído pelos alcoóis, as cetonas, o ácido acético, o acetato de etilo, o diclorometano, o acetonitrilo, a dimetilformamida, o dimetilsulfóxido e sua mistura.

8. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por o fluido supercrítico ser CO₂.

9. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por a substância activa ser escolhida no grupo constituído pelos derivados de anilidas, em particular a (S)-2',3',5'-trimetil-4'-hidroxi- α -dodeciltiofenilacetanilida, os derivados de epipodofilotoxina, em particular a 4'-demetil-4'-desoxi-4'-fosfato-4-0-(2,3-bis-(2,3,4,5,6-pentafluorofenoxiacetil)-4,6-etileno- β -D-glucosil)-epipodofilotoxina, o piroxicam, o ácido valérico, o ácido octanóico, o ácido láurico e o ácido esteárico.

10. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por o suporte poroso ser escolhido no grupo constituído pelas ciclodextrinas e sua mistura.

11. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por a etapa (b) de difusão molecular ser realizada sob agitação.

12. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por a etapa (b) de difusão molecular ser realizada na presença de um agente de difusão.

13. Processo de acordo com a reivindicação 12, caracterizado por o agente de difusão ser escolhido no grupo constituído pelo álcool, a água com ou sem agente surfactante e suas misturas.

14. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por a pressão do fluido supercrítico estar compreendida entre 10 MPa e 40 MPa e a temperatura entre 0 e 120°C.

15. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por cada uma das etapas do processo ser realizada num reactor fechado, em particular uma autoclave.

16. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por ser realizado em contínuo.

17. Composto de interacção de uma substância activa pouco solúvel num meio aquoso num suporte poroso caracterizado por ser susceptível de ser obtido pelo processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 16.

18. Composto de acordo com a reivindicação 17, caracterizado por a substância activa assim complexada apresentar uma solubilidade numa solução aquosa de Laurilsulfato de sódio a 5% superior a 600 µg/ml.

29-01-2008

1/4

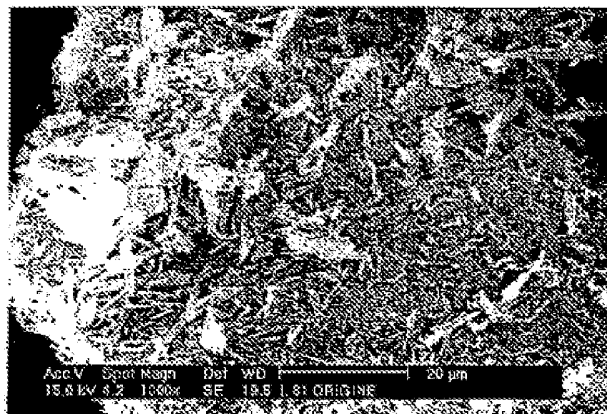


FIG.1

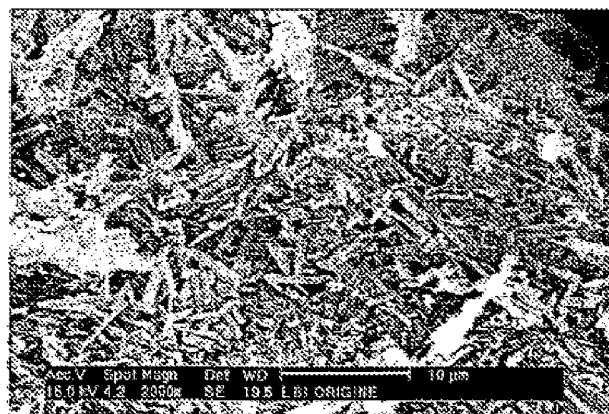


FIG.2

2/4

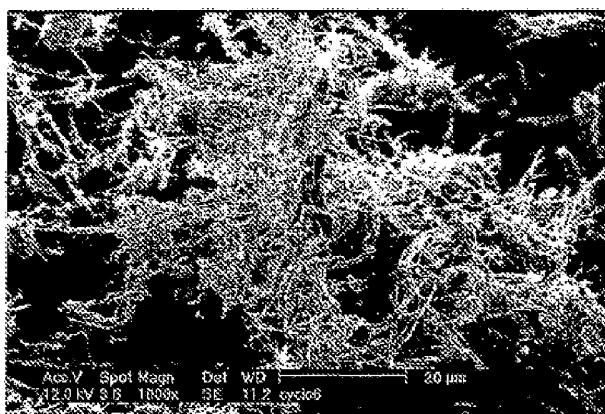


FIG.3

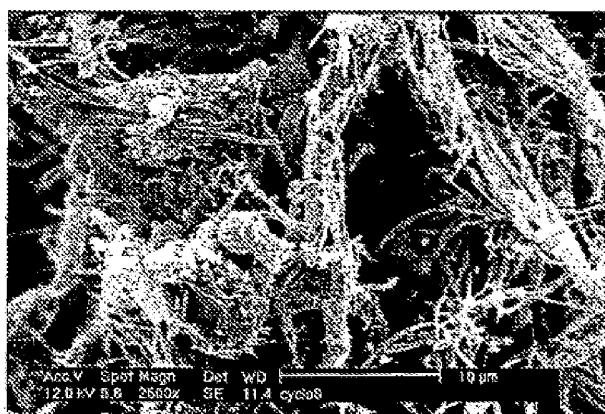


FIG.4

3/4

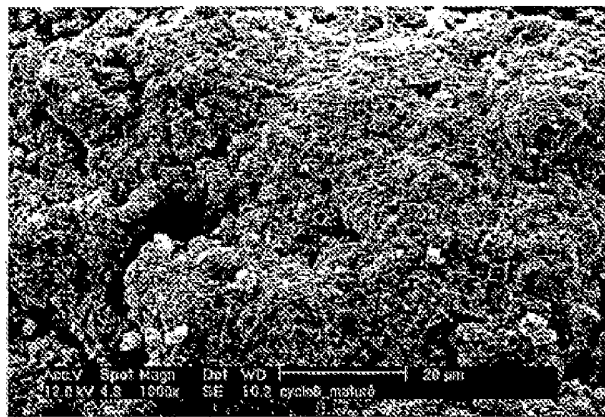


FIG.5

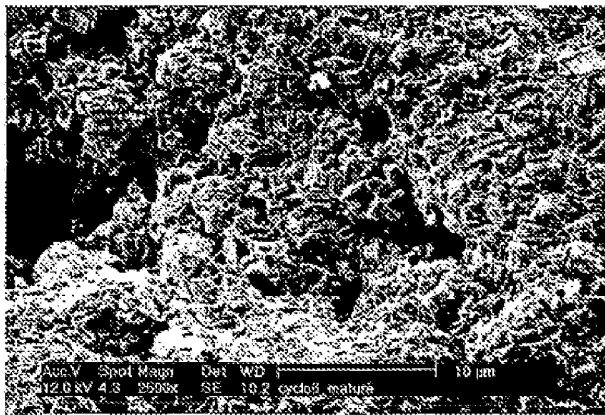


FIG.6

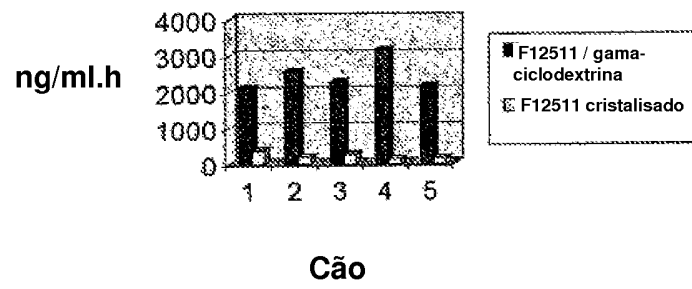


FIG.7