



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 1104941-3 A2



(22) Data de Depósito: 26/07/2011

(43) Data da Publicação: 30/07/2013
(RPI 2221)

(51) Int.Cl.:

A61K 9/127

A61K 47/40

C07D 311/30

A61K 31/352

C07C 39/205

A61K 31/57

C07C 35/21

C07C 35/22

A61P 3/04

(54) Título: PRODUTO NANOTECNOLÓGICO DE UMA FORMULAÇÃO LIPOSSOMAL ELÁSTICA PARA O TRATAMENTO DA OBESIDADE, LIPOMA, LIPODISTROFIA E GORDURAS SUBCUTÂNEAS

(73) Titular(es): José Luiz de Lima Filho

(72) Inventor(es): José Luiz de Lima Filho, Marcela Araújo Pereira, Maria do Carmo de Barros Pimentel, Nereide Stela Santos Magalhães, Pabyton Gonçalves Cadena, Rafaela Batista da Silva Cordeiro, Valdinete Lins da Silva

(57) Resumo: PRODUTO NANOTECNOLÓGICO DE UMA FORMULAÇÃO LIPOSSOMAL ELÁSTICA PARA O TRATAMENTO DA OBESIDADE, LIPOMA, LIPODISTROFIA E GORDURAS SUBCUTÂNEAS. A presente invenção contempla um produto nanotecnológico de uma formulação lipossomal elástica para o tratamento da obesidade, lipoma, lipodistrofia e gorduras subcutâneas utilizando o desoxicolato de sódio, quercetina e resveratrol como componentes ativos, sem a necessidade de posterior remoção desta gordura. Os fármacos citados já possuem ação comprovada contra adipócitos podendo ser empregados por via injetável, além de uma inovadora utilização de forma combinada com seus efeitos sinérgicos para potencializar sua bioatividade.

PRODUTO NANOTECNOLÓGICO DE UMA FORMULAÇÃO LIPOSSOMAL ELÁSTICA PARA
O TRATAMENTO DA OBESIDADE, LIPOMA, LIPODISTROFIA E GORDURAS SUBCUTÂNEAS

RELATÓRIO DESCRITIVO

5

Campo da Invenção

A presente invenção contempla formulações de lipossomas elásticos em escala nanométrica contendo como componentes ativos combinados o desoxicolato de sódio, quercetina e resveratrol e/ou seus complexos de inclusão com ciclodextrinas estabilizados em solução tampão para o tratamento de obesidade, lipoma, lipodistrofia e gorduras subcutâneas por via injetável sem a necessidade de remoção posterior desta gordura. Adicionalmente, esta invenção também apresenta métodos para a preparação destas formulações.

15

Antecedentes da Invenção

O acúmulo de gordura subcutânea pode ocasionar problemas tanto de ordem clínica quanto estética. Atualmente, existem diversos tratamentos disponíveis, mas normalmente envolvem métodos cirúrgicos bastante invasivos ou tratamentos com uma série de efeitos colaterais. Diante do exposto, a presente invenção propõe um produto inovador para a dissolução de gordura subcutânea com o efeito sinérgico de 2 fármacos ou mais fármacos, cujas atividades podem ser potencializadas pela presença do desoxicolato de sódio, o que evita a necessidade de posterior remoção desta gordura.

25

Várias doenças envolvem o acúmulo de gordura subcutânea, dentre elas a principal é a obesidade por ser um sério problema de saúde pública e também por estar implicada em uma série de doenças tais como a diabetes tipo II, hipertensão, doenças coronarianas e câncer, sendo esta caracterizada pelo aumento do tecido adiposo (YANG et al. 2008). Lipomas são neoplasias de células adiposas maduras

ocasionadas pelo acúmulo de tecido gorduroso que pode se estender por via intramuscular, normalmente são removidos de forma cirúrgica (Rotunda et al. 2005). A Lipodistrofia é ocasionada por terapia com antivirais devido aos seus efeitos colaterais, principalmente, em pacientes soropositivos e caracteriza-se pelo acúmulo anormal de
5 gordura subcutânea (Avram et al. 2005). Finalmente, a gordura subcutânea pode apresentar-se como um problema estético de forma que diversos tratamentos são utilizados para a sua redução e/ou remoção. Dentre eles a lipoaspiração e a cirurgia clássica demandam grande tempo de recuperação, métodos invasivos podendo provocar sérias sequelas ou até mesmo levar o paciente a óbito.

10 Diante do exposto acima, um tratamento bastante usado na dissolução de gorduras subcutâneas é a utilização do desoxicolato de sódio, este é um dos componentes da injeção de fosfatidilcolina já patenteada (PI 04189639A, WO2008008468A2, WO2008066775A2) e do Lipostabil®. Inicialmente, o princípio ativo desta formulação era atribuído a fosfatidilcolina, mas Rotunda et al. (2004) observou
15 que o desoxicolato de sódio administrado isoladamente possuía o mesmo efeito que a primeira. Este método utilizando injeções para a dissolução de gorduras subcutâneas é erroneamente conhecido como Mesoterapia, e foi desenvolvido na Europa para posteriormente ser difundido para os Estados Unidos e Brasil. Esta técnica foi inicialmente utilizada na remoção de celulite (BRYANT, 2004).

20 Certas patentes e artigos científicos apresentam a utilização do desoxicolato de sódio e/ou Lipostabil® para o tratamento de lipomas, lipodistrofia, obesidade e gorduras subcutâneas, mas estas formulações apresentam sérios efeitos colaterais como edema, eritema, dor, ardor ou sensibilidade no local de aplicação. Estas também não se apresentam na forma de lipossomas, ou como complexos de inclusão com
25 ciclodextrinas, nem combinadas com flavonoides o que poderia reduzir estes efeitos colaterais.

O artigo científico publicado por Rittes et al. (2001) apresenta o uso da injeção de fosfatidilcolina (250 mg/5mL) para a dissolução de bolsas de gordura periorbitais sendo a pioneira neste tipo de tratamento com posterior uso da injeção de
30 fosfatidilcolina (250mg/ 5mL) no tratamento de gordura subcutânea.

Os artigos científicos publicados por Rotunda et al. (2004) e Bechara et al (2006 e 2007) demonstram a utilização do Lipostabil® e do desoxicolato de sódio (Fosfatidilcolina 5%, desoxicolato de sódio 4,75%, álcool benzílico 0,9%, água 100mL) para o tratamento de lipomas onde houve uma redução de mais de 75% na área tratada, mas também observou-se uma série de efeitos colaterais como edema, coceira, eritema e queimaduras.

O artigo científico publicado por Salti et al. (2008) relata a administração de injeções subcutâneas de fosfatidilcolina/desoxicolato de sódio em 37 pacientes do sexo feminino portadoras de lipodistrofia onde observou-se uma redução de 91,9% da gordura local, mas também observou-se uma série de efeitos colaterais como dor durante a injeção, eritema, queimaduras, edema, coceira no local da injeção, tontura, mal estar e diarreia.

O artigo científico publicado por Rotunda et al. (2004) descreve uma formulação mais simples que o Lipostabil® para o tratamento de gordura subcutânea com a seguinte composição: Fosfatidilcolina (5% p/v), desoxicolato de sódio (4,75% p/v), álcool benzílico (0,9% p/v) e água (100 mL).

A patente PCT WO 2005/117900 A1 (2005) descreve a composição e método para a remoção não cirúrgica de gordura subcutânea utilizando detergentes farmacologicamente ativos. A formulação é composta de desoxicolato de sódio e fosfatidilcolina com injeção diretamente no local de tratamento sem a necessidade de remoção posterior da gordura.

A patente PCT WO 2006/007675 A1 (2006) descreve a composição de uma formulação usando agentes tensoativos (0,5-10%) como o ácido cólico e o ácido desoxicólico, álcool benzílico 0,3-1%, co-solvente tais como o glicol e o sorbitol (5-10%) e sua ação sobre a gordura subcutânea e flacidez da pele.

O artigo científico publicado por SCHULLER-PETROVIC et al. (2008) apresenta uma formulação baseada no medicamento Lipostabil®, este último utilizado para o tratamento de embolia gordurosa, para a dissolução de gordura subcutânea com a seguinte composição Fosfatidilcolina, (46,5 mg), Desoxicolato de sódio (25,3 mg),

Álcool benzílico (9 mg), Cloreto de sódio (3,6 mg), Hidróxido de sódio (2,53 mg), DL- α -Tocoferol (0,15 mg), Álcool etílico (3 mg) e Água (907,8 mg).

As patentes PCT WO 2008/008468 A2 (2008) e PCT WO 2008/066775 A2 (2008) descrevem composição, método e aparato para o tratamento de gordura subcutânea ou outras alterações do tecido adiposo que afetam a aparência da camada de pele
5 sobrejacente propondo diversas combinações de concentrações entre fosfatidilcolina e desoxicolato de sódio, este último variando entre 22 e 42 mg/mL.

As ciclodextrinas podem estabilizar soluções supersaturadas de fármacos aumentando a solubilidade. Esta também aumenta a taxa de dissolução e
10 consequentemente a biodisponibilidade de fármacos. Ciclodextrinas são formadas de oligossacarídeos cíclicos consistindo de 6 (α -ciclodextrina), 7 (β -ciclodextrina), 8 (γ -ciclodextrina) ou mais unidades de glicose unidas por ligações α -(1,4) (LOFTSSON E DUCHÊNE, 2007). Em solução aquosa possuem uma estrutura cilíndrica com exterior hidrofílico e interior hidrofóbico capaz de formar complexos de inclusão com uma
15 grande variedade de moléculas dentro de sua cavidade hidrofóbica, tais como fármacos, indicadores, pequenos ânions, ácidos carboxílicos, álcoois (TAWARAH e KHOURI, 2000). Estas moléculas ficam ligadas por forças intermoleculares não covalentes (DEL VALLE, 2004; BREWSTER e LOFTSSON, 2007). A literatura não apresenta formulações baseadas em desoxicolato de sódio complexado a
20 ciclodextrinas para a dissolução de gorduras subcutâneas.

A patente US 20070071706 (2007) descreve formulações farmacêuticas para o tratamento de gordura subcutânea onde o autor propõe a utilização do desoxicolato como agente emulsificante e a ciclodextrina como agente para aumentar a permeabilidade de outros fármacos. Esta formulação não utiliza o complexo de
25 inclusão desoxicolato de sódio/ciclodextrina, nem faz menção à utilização destes por via injetável.

Neste contexto, os lipossomas, um dos sistemas de liberação controlada de fármacos mais utilizados, podem ser caracterizados como vesículas esféricas constituídas de uma ou mais bicamadas concêntricas de lipídeos, que isolam um ou

vários compartimentos aquosos internos do meio externo podendo proteger o fármaco da luz e da degradação por outros processos. Podem ser usados como sistema transportador visando direcionar o fármaco para a célula alvo e evitar locais indesejáveis onde o fármaco exerça toxicidade. Estes podem se apresentar em escala nanométrica, uma área interdisciplinar de pesquisa e desenvolvimento que envolve a

5 manufatura, processamento e aplicação de substâncias ou dispositivos que possuem uma ou mais dimensões em escala nanométrica (TORCHILIN, 2005; MOZAFARI et al. 2008).

Uma grande vantagem dos lipossomas em escala nanométrica, com relação a

10 outros sistemas transportadores de fármacos, é a sua elevada biocompatibilidade, especialmente, quando estes são formados de lipídeos pertencentes à família de lipídeos naturais. Além disso, são sistemas altamente versáteis, cujo tamanho, lamelaridade, superfície, composição lipídica, volume e composição do meio aquoso interno podem ser manipulados em função dos requisitos farmacêuticos e

15 farmacológicos (BATISTA et al., 2007; FANG et al., 2006; FRÉZARD et al., 2005).

O desoxicolato de sódio pode ser utilizado como tensoativo aniônico na formação de lipossomas, estes são conhecidos como lipossomas elásticos ou transferossomas®, mas estas formulações nunca foram usadas na dissolução de gorduras, nem possuem fármacos encapsulados com esta aplicação, o desoxicolato de

20 sódio também não se apresenta na forma complexada com ciclodextrinas. A principal vantagem dos lipossomas elásticos é a sua deformabilidade e maior penetração no estrato córneo. Certas patentes e artigos científicos descrevem o processo de produção destas vesículas.

A patente PCT WO 2011/022707A1 descreve formulações lipossomais

25 compostas de um ou mais fosfolipídeos e um ou mais tensoativos não iônicos para o tratamento de desordens no metabolismo de ácidos graxos, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia. Esta patente caracteriza-se com transferossomas®, mas não possui o desoxicolato de sódio em sua composição.

O artigo científico publicado por Gillet et al. (2009) descreve o processo de preparação de lipossomas contendo a betametasona, um anti-inflamatório, encapsulada em lipossomas elásticos cujo tensoativo é o desoxicolato de sódio na proporção de 13% (m/m) para aplicação tópica. Este artigo demonstra que é possível
5 produzir lipossomas contendo o desoxicolato de sódio encapsulado, mas não apresenta seu uso com ciclodextrinas.

A patente US 6150500 (2000) descreve uma preparação para a aplicação de agentes terapêuticos dotados de estruturas de membrana, consistindo de transferossomas® em escala nanométrica ou micrométrica contendo fosfolípidos
10 (0,1-30%) e tensoativos na proporção de 5:5:1 até 1:500 para atravessar barreiras naturais tais como a pele, o que não inclui aplicações por via subcutânea injetável. O autor sugere a incorporação de insulina nestes transferossomas® como aplicação.

Recentemente descobriu-se que flavonoides como a quercetina, resveratrol e genisteína possuem ação apoptótica e antiadipogênica em tecido adiposo. Estes
15 flavonoides não podem ser aplicados diretamente *in vivo*, pois são rapidamente metabolizados em mais de 90%, e possuem baixa estabilidade, sendo necessário a sua proteção pela incorporação em sistemas de liberação controlada de fármacos.

Alguns trabalhos científicos demonstraram a aplicação combinada dos flavonoides em questão, tais como o de Yang et al. (2008), que estudou os efeitos de
20 quercetina (100 μ M) e resveratrol (100 μ M) combinados em linhagens de células 3T3-L1 e observou um decréscimo na acumulação de lípidos de $73,5 \pm 0,9\%$ e aumento na apoptose de $310,3 \pm 9,6\%$ maior que a utilização destes compostos isoladamente. Park et al. (2008) também estudou os efeitos combinados de quercetina (100 μ M), resveratrol (100 μ M) e genisteína (50 μ M) em adipócitos jovens e maduros (3T3-L1)
25 provocando apoptose. Não foi observado este efeito quando os compostos eram utilizados isoladamente.

A quercetina possui como mecanismo de ação sobre adipócitos o decréscimo do potencial de membrana pela redução da regulação de poli (ADP-Ribose) polimerase, bcl-2 e ativação da caspase 3, consequentemente iniciando um processo

de apoptose pela inibição da mitogênese celular. A quercetina também induz lipólise em adipócitos, pois é potente inibidora de fosfodiesterase, uma enzima que hidrolisa o AMPc com consequente inativação de proteínas quinases. Devido à inibição da atividade da fosfodiesterase há um aumento da lipólise no adipócito (Raylam et al., 2008).

Resveratrol pode reduzir a adipogênese e a viabilidade em pré-adipócitos. Estes efeitos não são apenas regulados pela redução de fatores de transcrição e enzimas, mas também por genes que regulam a função mitocondrial. Adicionalmente, resveratrol aumenta a lipólise e reduz a lipogênese em adipócitos maduros. O uso de resveratrol também tem mostrado a redução na síntese de lipídeos em fígado de rato e adipócitos 3T3-L1. Ele também inibiu a proliferação em pré-adipócitos dependentes de SIRT-1 e sinergicamente aumentou a produção de fator alfa de necrose tumoral (TNF- α) induzindo apoptose em adipócitos humanos. A diferenciação dos pré-adipócitos e a indução de vias metabólicas do metabolismo dos lipídeos incluem a expressão de genes específicos tais como PPAR γ , C/EBP α , proteínas de ligação-1c (SREBP-1c), sintases de ácidos graxos (FAS) e lipoproteínas, indicando que o resveratrol pode alterar a massa de gordura afetando diretamente as vias que envolvem a adipogênese (BAILE et al., 2011). O Resveratrol também altera a expressão de genes que modulam a função mitocondrial, pois ativa a nicotinamida adenina dinucleotídeo-dependente de acetilase SIRT1, uma das sete sirtuínas de mamíferos envolvidas na homeostase de glicose e no metabolismo lipídico (BAUR, 2010a; b; DAL-PAN et al., 2010; SZKUDELSKA e SZKUDELSKI, 2010). Esta ativação da SIRT1 pelo resveratrol parece prevenir a obesidade ao induzir o metabolismo mitocondrial oxidativo de ácidos graxos e também diminuir a resistência à insulina em camundongos submetidos a uma dieta de alto valor calórico.

Certas patentes e artigos científicos já apresentaram o uso de formulações lipossomais e dos fármacos quercetina, resveratrol, mas com constituintes e aplicações diferentes das propostas nesta invenção além de não utilizarem o desoxicolato de sódio nem sua forma complexada a ciclodextrinas.

A patente PCT WO 2011/042482 A1 (2011) propõe o uso de polifenóis livres e em associação, incluindo pterostilbeno, quercetina e resveratrol, para o tratamento de diferentes tipos de câncer (pulmão, mama, próstata, tecido conjuntivo, osso, cérebro e músculos). O autor também apresenta a possibilidade de utilização de sistemas de liberação controlada tais como lipossomas, micropartículas, cápsulas, dendrímero, etc. Não há reivindicação de produtos em escala nanométrica.

A patente BR PI 0903103-0 A2 (2011) apresenta preparação de suplemento alimentar na forma de cápsulas ou comprimidos a base de queratina, quercetina e rutina a serem usados como compostos energéticos auxiliando nas atividades esportivas.

A patente PCT WO 2010/124540 A1 (2010) descreve a preparação de uma formulação de lipossomas elásticos contendo resveratrol (0,5-10%), fosfolípídeo (0,5-10%) e tensoativo (0,1-30%), sem a presença de quercetina e desoxicolato de sódio.

A patente PCT WO 2010/0006026 A2 (2010) descreve um método de controle da função renal através do uso de uma formulação por via oral ou parenteral a base de quercetina, vitamina C e vitamina B3 e opcionalmente ácido fólico como antioxidantes na proporção de 1:0.2-2.5:0.02-1, respectivamente. Esta formulação aumenta a filtração glomerular e reduz a atividade da creatinina quinase. Esta formulação não é caracterizada como um produto lipossomal nem possui resveratrol ou desoxicolato de sódio em sua composição.

A patente BR PI 0805667-6 A2 (2010) apresenta uma formulação com resveratrol encapsulado em lipossomas em escala nanométrica e/ou impregnado em prata. Este produto pode ser aplicado por via oral ou tópica e ainda na fabricação de medicamentos dermocosméticos e nutracêuticos.

A patente BR PI 0705319-3 A2 (2009) descreve processo de preparação para obtenção de complexo de inclusão de resveratrol e β -ciclodextrina com ação antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, cardioprotetora, neuroprotetora e/ou quimiopreventiva de câncer. Esta também não contém quercetina nem desoxicolato de sódio.

A patente US 20090104255 (2009) descreve uma formulação pro-lipossomal incorporada em comprimidos revestidos ou cápsulas para compostos policíclicos, aromáticos, antioxidantes ou anti-inflamatórios para protegê-los da degradação no trato gastrointestinal administrados por via oral. Dentre estes compostos são utilizados a quercetina e o resveratrol. A formulação lipossomal é composta de fosfolípidos tais como fosfatidilcolina e etanolamina, esfingosina e ceramidas, colesterol e estearilamina na sua composição, o que confere carga final positiva. Essa formulação apresenta uma desvantagem com relação à presente invenção, pois há uma interação entre a quercetina e estearilamina reduzindo a eficiência de encapsulação do fármaco.

A patente BR PI 0701220-9 A2 (2008) apresenta métodos de síntese de derivados da rutina e quercetina e reivindica composição cosmética e farmacêutica com esses compostos com função fotoprotetora à radiação UVA, UVB e UVC.

A patente PCT WO 2007/008548 A2 (2007) descreve formulações para uso sistêmico à base de flavonas, estilbenos, flavononas, isoflavonas, catequinas, chalconas, taninos ou antocianidinas e nicotinamidas para a prevenção de distúrbios metabólicos incluindo a obesidade. Dentre os compostos apresentados encontram-se a quercetina e o resveratrol com concentração maior ou igual a 200 mg e suas formas derivadas incluindo também preparações lipossomais furtivas (de longa circulação sanguínea) utilizando o PEG (1000-5000 Da, 5% mol/%) em escala nanométrica até micrométrica. A patente não apresenta os constituintes da formulação lipossomal. Estes lipossomas diferem dos propostos nesta invenção por serem de longa circulação (furtivos) diferente dos de ação locais e efêmeros que possuem composição e método de produção mais simples, além disso, não apresentam o desoxicolato de sódio em sua composição como tensoativo ou fármaco. Ainda concentração de fármaco proposta é muito menor (1,2 mg/mL).

A patente PCT WO 2006/062544 A1 (2006) descreve uma formulação pró-lipossomal revestida com quitosana incorporados em comprimidos revestidos ou cápsulas contendo polifenóis, incluindo o resveratrol como agente anti-inflamatório e antioxidante. Esta não utiliza a quercetina em suas formulações e, consequentemente, não possui o efeito sinérgico com o resveratrol.

A patente PCT WO 2005/082407 A1 (2005) descreve a composição e método de produção de formulações tópicas a base de quercetina e resveratrol (2 a 75 μ M, 1:1) ou quercetina e genisteína para o tratamento de câncer oral. Esta formulação apresenta componentes ativos na proporção de 25-75% sendo o restante formado por excipientes.

A patente BR PI0405375 A (2004) descreve a aplicação de trans-resveratrol ou outros derivados estilbenos no tratamento de lipodistrofia ginóide. Segundo o qual o produto fitoterápico medicamentoso ou cosmético para uso tópico é aplicado em distúrbios do tecido conjuntivo adiposo subcutâneo, particularmente lipodistrofia ginóide ou celulite, onde uma ou mais substâncias presentes no produto em questão inibe a atividade de estrógenos no tecido subcutâneo; estas substâncias são em particular, bloqueadores totais ou parciais de receptores de estrógenos. O produto em questão não apresenta quercetina em sua composição nem se apresenta como fórmula lipossomal.

Diante do exposto acima, o uso de lipossomas elásticos contendo desoxicolato de sódio, quercetina e resveratrol como componentes ativos e/ou seus complexos de inclusão por via subcutânea ou tópica poderá aumentar a eficácia do tratamento para obesidade, lipoma, lipodistrofia e gorduras subcutâneas diminuindo a toxicidade, através da redução da dose terapêutica, das propriedades anti-inflamatórias dos flavonoides e da liberação controlada do princípio ativo. Adicionalmente, pela primeira vez são combinados componentes com propriedades necróticas, apoptóticas e lipolíticas em um único sistema de liberação controlada de fármacos.

Descrição da Invenção

Lipossomas elásticos em escala nanométrica contendo desoxicolato de sódio, quercetina e resveratrol e seus complexos de inclusão com ciclodextrinas foram preparados utilizando o método de hidratação do filme lipídico como se segue: Fosfatidilcolina e colesterol, em quantidades suficientes para formar um lipossoma, foram dissolvidos em uma mistura de solventes orgânicos. Estes foram posteriormente

evaporados formando um filme lipídico delgado. Posteriormente, este filme foi hidratado com um tampão produzindo lipossomas multilamelares. Finalmente, estes lipossomas foram sonicados formando lipossomas unilamelares (escala nanométrica). O desoxicolato de sódio e os fármacos quercetina e resveratrol, em quantidades

5 suficientes para serem bioativos, podem ser adicionados diretamente aos constituintes lipídicos ou dissolvidos no tampão de hidratação complexados a ciclodextrinas nas mesmas concentrações.

Seguem abaixo descrições da invenção, em algumas de suas modalidades preferidas, em relação às figuras de 1 a 5.

- 10 1. Estrutura do desoxicolato de sódio em sua forma ácida;
2. Estrutura química do desoxicolato em sua forma de sal de sódio;
3. Estrutura química da quercetina;
4. Estrutura química do resveratrol;
5. Esquema de produção dos lipossomas em sua escala nanométrica no qual
- 15 fosfatidilcolina e colesterol formam um filme lipídico delgado, este é posteriormente hidratado por um tampão e sonificado para produzir lipossomas em escala nanométrica. Os fármacos podem ser adicionados diretamente no filme lipídico bem como no tampão de hidratação complexados a
- 20 ciclodextrinas. Legenda: PC = Fosfatidilcolina, CH = Colesterol, CD = Ciclodextrina, SDC = Desoxicolato de sódio, QUE = Quercetina, RES = Resveratrol, MLV = Vesícula multilamelar grande e SUV = Vesícula unilamelar pequena.
6. Esquema dos lipossomas produzidos em escala nanométrica com os fármacos na fase orgânica e ou complexados a ciclodextrinas no tampão de hidratação;
- 25 Uma modalidade preferida, conforme descrito na figura 5, descreve a preparação dos lipossomas elásticos em escala nanométrica. Na presente invenção, foi preferido utilizar como tampão de hidratação, o tampão fosfato de potássio em pH fisiológico com força iônica crescente à medida que maiores concentrações de

desoxicolato de sódio são usadas, pois melhorou a estabilização e também permitiu a produção de lipossomas com características físico-químicas adequadas. Adicionalmente, o tampão fosfato salina (PBS) também pode ser utilizado.

5 O fosfolípídeo, fosfatidilcolina, naturalmente forma lipossomas em meio aquoso, mas estes não se apresentam em escala nanométrica, sendo necessária a utilização de técnicas específicas para o preparo.

O colesterol utilizado nas formulações possui como função o aumento da rigidez da bicamada lipídica aumentando sua estabilidade.

10 A ciclodextrina utilizada tem como função permitir a solubilização dos fármacos hidrofóbicos em meio aquoso (tampão de hidratação) para posterior incorporação aos lipossomas. A ciclodextrina utilizada nesta modalidade pode ser a hidroxipropil-beta-ciclodextrina. Finalmente quando os fármacos são incorporados aos lipossomas tanto na fase orgânica quanto na fase aquosa, complexados a ciclodextrinas, isto é caracterizado como co-encapsulação.

15 A concentração de desoxicolato de sódio (Figuras 1 e 2) utilizada nas formulações lipossomais é menor que a utilizada nas formulações derivadas do Lipostabil® (42 mg/mL) para reduzir os efeitos colaterais decorrentes da necrose imediata após a injeção ou aplicação. Adicionalmente, não é descartado o efeito benéfico de necrose nem de retração da pele após a aplicação, evitando a cirurgia
20 corretiva.

Devido à presença do desoxicolato de sódio houve uma redução na viscosidade para $0,35 \pm 0,01$ cp da suspensão lipossomal o que melhora seu uso na forma injetável. Adicionalmente a presença do desoxicolato de sódio confere propriedades elásticas às formulações lipossomais produzidas devido à redução na tensão superficial das
25 vesículas.

A associação de quercetina (Figura 3) e resveratrol (Figura 4) encapsulados em lipossomas elásticos em escala nanométrica pode promover um efeito sinérgico o que potencializa o efeito apoptótico e lipolítico, já bem documentado na literatura. A concentração encapsulada destes fármacos na presente invenção foi de até 23 vezes

maior que a relatada na literatura (100 μ M), a qual comprovadamente apresentou efeitos apoptóticos e lipolíticos em adipócitos humanos. Adicionalmente, a quercetina e o resveratrol devido ao seu potente efeito antiinflamatório podem reduzir efeitos colaterais provenientes de possíveis necroses. Finalmente, a genisteína, outro fármaco com propriedades lipolíticas e apoptóticas, pode ser adicionada as formulações.

O tamanho médio das vesículas nas formulações lipossomais foi de 150 nm sendo este compatível com o diâmetro das seringas utilizadas para injeção subcutânea e também para a permanência no local da injeção devendo ser maior que 100 nm.

A segunda modalidade é representada na figura 5 mostrando os diferentes tipos de lipossomas produzidos em escala nanométrica com os fármacos encapsulados na fase orgânica e/ou aquosa complexados a ciclodextrinas.

A tabela a seguir apresenta os resultados obtidos em uma série de formulações lipossomais elásticas produzidas demonstrando o tamanho das vesículas em escala nanométrica e as altas eficiências de encapsulação dos componentes ativos da formulação.

Tabela: Exemplos de formulações lipossomais elásticas produzidas

<i>Composição</i>	<i>Tamanho médio (nm)</i>	<i>Índice de polidispersão</i>	<i>Carga de superfície ζ (mv)</i>	<i>Eficiência de encapsulação (%)</i>
<i>Formulações com fármacos separados</i>				
PC-CH-SA-QUE	110,1 ± 9,3	0,347 ± 0,077	+25,93 ± 1,87	86,00 ± 5,20
PC-CH-QUE	124,9 ± 2,1	0,298 ± 0,022	-3,72 ± 1,37	97,30 ± 1,30
PC-CH-SA-CD-QUE	146,1 ± 5,6	0,298 ± 0,025	+22,86 ± 1,67	93,89 ± 1,76
PC-CH-CD-QUE	126,2 ± 1,4	0,272 ± 0,008	-10,01 ± 2,76	95,50 ± 0,58
PC-CH-SA-RES	118,8 ± 9,5	0,321 ± 0,046	+22,91 ± 1,46	96,43 ± 2,64
PC-CH-RES	142,5 ± 5,1	0,327 ± 0,019	-0,47 ± 0,00	98,28 ± 0,86
PC-CH-SA-CD-RES	120,7 ± 1,7	0,272 ± 0,049	+21,02 ± 1,40	93,75 ± 0,86
PC-CH-CD-RES	115,0 ± 14,3	0,337 ± 0,053	-6,95 ± 1,96	95,46 ± 1,92
PC-CH-SA-SDC	110,8 ± 13,4	0,324 ± 0,089	+21,68 ± 2,72	ND
PC-CH-SDC	134,7 ± 3,6	0,301 ± 0,095	-13,3 ± 3,50	ND
PC-CH-SA-CD-SDC	106,5 ± 10,8	0,320 ± 0,025	+20,99 ± 2,64	ND
<i>Formulações com fármacos combinados na fase orgânica e ou aquosa (Houve variação nas concentrações dos constituintes lipossomais)</i>				
PC ¹ -CH ¹ -SDC-QUE-CD:RES	128,3 ± 1,78	0,257 ± 0,017	-7,73 ± 0,68	92,26 ± 0,052
PC ³ -CH ¹ -SDC-QUE-RES	139,5 ± 10,64	0,305 ± 0,046	-8,29 ± 0,30	93,82 ± 0,18
PC ¹ -CH ³ -SDC-QUE-RES	133,6 ± 3,24	0,285 ± 0,016	-13,34 ± 1,36	93,92 ± 0,14
PC ³ -CH ³ -SDC-QUE-CD:RES	122,5 ± 10,78	0,284 ± 0,016	-5,68 ± 0,92	94,66 ± 0,083
PC ¹ -CH ¹ -CD:SDC-QUE-RES	131,5 ± 11,87	0,333 ± 0,095	-5,72 ± 1,16	93,34 ± 0,025
PC ³ -CH ¹ -βCD:SDC-QUE-CD:RES	164,5 ± 26,58	0,342 ± 0,103	-3,38 ± 2,31	92,56 ± 0,21
PC ¹ -CH ³ -CD:SDC-QUE-CD:RES	129,1 ± 1,89	0,274 ± 0,010	-7,35 ± 1,23	89,62 ± 0,75
PC ³ -CH ³ -CD:SDC-QUE-RES	133,3 ± 2,48	0,262 ± 0,022	-7,38 ± 1,15	91,18 ± 0,21
PC ¹ -CH ¹ -SDC-CD:QUE-RES	129,7 ± 2,48	0,251 ± 0,031	-16,69 ± 0,85	90,84 ± 0,70
PC ³ -CH ¹ -SDC-CD:QUE-CD:RES	129,4 ± 2,71	0,264 ± 0,025	-8,44 ± 1,29	88,17 ± 0,15
PC ¹ -CH ³ -SDC-CD:QUE-CD:RES	139,5 ± 3,42	0,268 ± 0,025	-8,54 ± 0,20	85,37 ± 0,41
PC ³ -CH ³ -SDC-CD:QUE-RES	135,9 ± 1,86	0,272 ± 0,015	-6,64 ± 0,69	95,59 ± 0,06
PC ¹ -CH ¹ -CD:(SDC-QUE-RES)	133,3 ± 2,03	0,248 ± 0,016	-6,28 ± 1,96	87,30 ± 0,82
PC ³ -CH ¹ -CD:SDC-CD:QUE-RES	138,2 ± 17,85	0,485 ± 0,050	-4,51 ± 1,60	90,45 ± 0,25
PC ¹ -CH ³ -CD:SDC-CD:QUE-RES	145,7 ± 36,12	0,293 ± 0,031	-6,03 ± 0,23	87,29 ± 1,15
PC ³ -CH ³ -CD:(SDC-QUE-RES)	123,6 ± 3,79	0,374 ± 0,038	-11,28 ± 0,99	77,41 ± 0,39
PC ² -CH ² -Fármacos-CD:Fármacos	130,0 ± 6,33	0,283 ± 0,057	-9,98 ± 0,93	89,41 ± 0,11
PC ² -CH ² -Fármacos-CD:Fármacos	133,3 ± 5,05	0,284 ± 0,038	-7,47 ± 0,80	93,58 ± 0,56
PC ² -CH ² -Fármacos-CD:Fármacos	130,1 ± 2,26	0,272 ± 0,012	-10,28 ± 0,98	92,85 ± 0,19
<i>Formulações com fármacos combinados com concentração variável</i>				
PC-CH ¹ -SDC ¹ -(QUE-RES) ¹	153,1 ± 11,25	0,401 ± 0,079	-7,29 ± 0,97	98,53 ± 0,270
PC-CH ³ -SDC ¹ -(QUE-RES) ¹	143,5 ± 4,87	0,278 ± 0,027	-5,27 ± 1,73	98,42 ± 0,120
PC-CH ¹ -SDC ³ -(QUE-RES) ¹	124,9 ± 8,41	0,443 ± 0,118	-12,23 ± 0,84	97,55 ± 0,067
PC-CH ³ -SDC ³ -(QUE-RES) ¹	123,4 ± 10,58	0,354 ± 0,116	-12,00 ± 1,31	98,60 ± 0,063
PC-CH ¹ -SDC ¹ -(QUE-RES) ³	142,0 ± 12,39	0,433 ± 0,089	-7,07 ± 0,37	99,50 ± 0,037
PC-CH ³ -SDC ¹ -(QUE-RES) ³	146,6 ± 14,32	0,486 ± 0,083	-7,75 ± 0,44	97,89 ± 0,016
PC-CH ¹ -SDC ³ -(QUE-RES) ³	149,4 ± 2,47	0,295 ± 0,011	-13,48 ± 0,25	97,49 ± 0,064
PC-CH ³ -SDC ³ -(QUE-RES) ³	125,5 ± 2,57	0,300 ± 0,011	-11,77 ± 1,25	99,02 ± 0,052
PC-CH ² -SDC ² -(QUE-RES) ²	141,1 ± 1,44	0,299 ± 0,014	-12,09 ± 0,53	98,73 ± 0,038
PC-CH ² -SDC ² -(QUE-RES) ²	129,3 ± 6,14	0,351 ± 0,051	-10,52 ± 1,34	99,34 ± 0,005
PC-CH ² -SDC ² -(QUE-RES) ²	120,9 ± 2,54	0,287 ± 0,016	-9,98 ± 0,82	98,42 ± 0,086

PC = Fosfatidilcolina, Ch = Colesterol, CD = Ciclodextrina, SDC = Desoxicolato de sódio, QUE = Quercetina, RES = Resveratrol e ND = Não determinado. ^{1,2,3} = Equivalente a concentrações crescentes.

REIVINDICAÇÕES

1. MÉTODO de preparação de lipossomas elásticos constituídos de fosfatidilcolina e colesterol em escala nanométrica com sais biliares e flavonoides bioativos
5 incorporados a fase orgânica e/ou seus complexos de inclusão com ciclodextrinas no tampão de hidratação;
2. MÉTODO de preparação de lipossomas elásticos em escala nanométrica segundo a reivindicação 1 onde a fosfatidilcolina e o colesterol formam um filme lipídico por evaporação do solvente com sais biliares e/ou flavonoides, seguido de hidratação
10 com tampão fosfato de potássio ou fosfato salina;
3. MÉTODO de preparação de lipossomas elásticos em escala nanométrica segundo a reivindicação 1 onde a fosfatidilcolina e o colesterol formam um filme lipídico por evaporação do solvente, seguido de hidratação com tampão fosfato de potássio ou
15 potássio salina contendo os sais biliares e flavonoides complexados a ciclodextrinas;
4. MÉTODO de preparação de lipossomas elásticos em escala nanométrica segundo a reivindicação 1 por co-encapsulação segundo reivindicações 3 e 4;
5. MÉTODO de preparação de lipossomas elásticos em escala nanométrica segundo a reivindicação 1 onde o sal biliar é o desoxicolato de sódio para a bioatividade
20 desta invenção ou ácido cólico e/ou outros sais biliares para outras bioatividades, encapsulados na fase orgânica e/ou complexado a ciclodextrinas no tampão de hidratação;
6. MÉTODO de preparação de lipossomas em escala nanométrica segundo a reivindicação 1 onde os flavonoides foram quercetina e resveratrol e/ou genisteína
25 encapsulados na fase orgânica e/ou complexados a ciclodextrinas no tampão de hidratação;
7. MÉTODO de preparação de lipossomas elásticos em escala nanométrica, segundo a reivindicação 1 onde existe a possibilidade de escalonamento industrial.

8. PRODUTO nanotecnológico a base de uma formulação lipossomal elástica injetável caracterizada por ser composto de fosfatidilcolina, colesterol, sal biliar, flavonoides e/ou seus complexos de inclusão com ciclodextrinas para o tratamento de obesidade, lipomas, lipodistrofia e gorduras subcutâneas com fins estéticos;

5 9. PRODUTO nanotecnológico a base de uma formulação lipossomal elástica injetável segundo a reivindicação 8, na qual o sal biliar é o desoxicolato de sódio;

10 10. PRODUTO nanotecnológico a base de uma formulação lipossomal elástica injetável segundo a reivindicação 8 onde os flavonóides são quercetina e resveratrol e/ou genisteína;

11. PRODUTO nanotecnológico a base de uma formulação lipossomal elástica injetável segundo a reivindicação 8 onde o tamanho das vesículas estão dentro da faixa de 100 a 400 nm adequada para formulações injetáveis e para permanência no local de aplicação;

15 12. PRODUTO nanotecnológico a base de uma formulação lipossomal elástica injetável segundo a reivindicação 8 onde as formulações podem ser utilizadas em sua forma líquida ou líofilo reidratado em água;

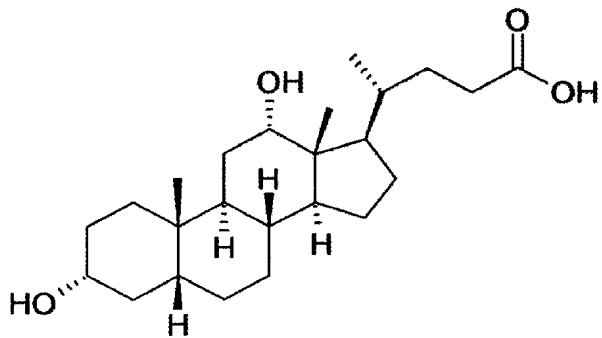
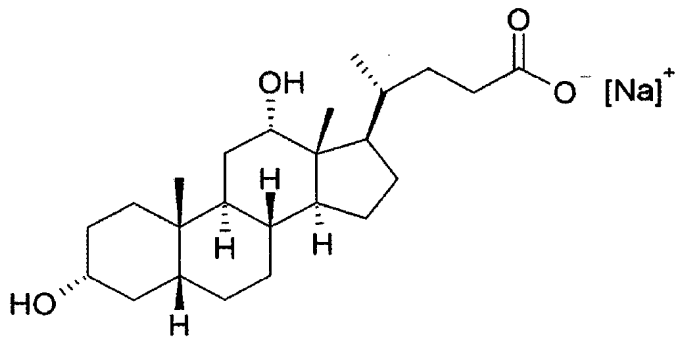
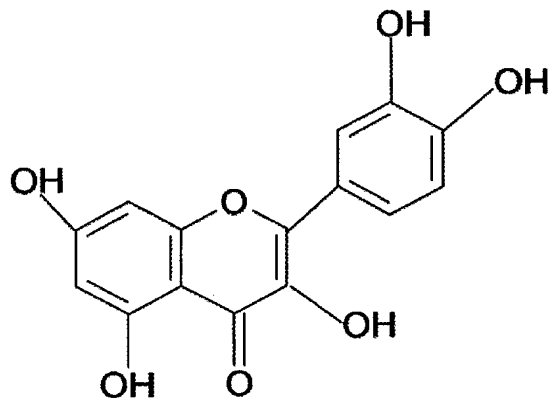
Figura 1**Figura 2****5 Figura 3**

Figura 4

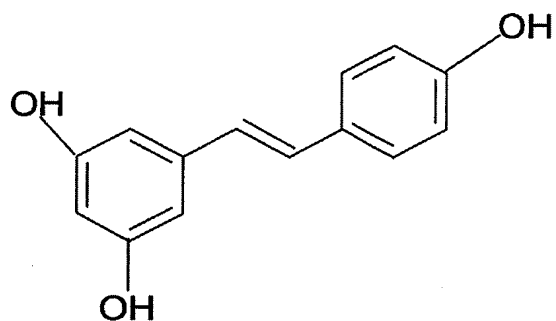


Figura 5

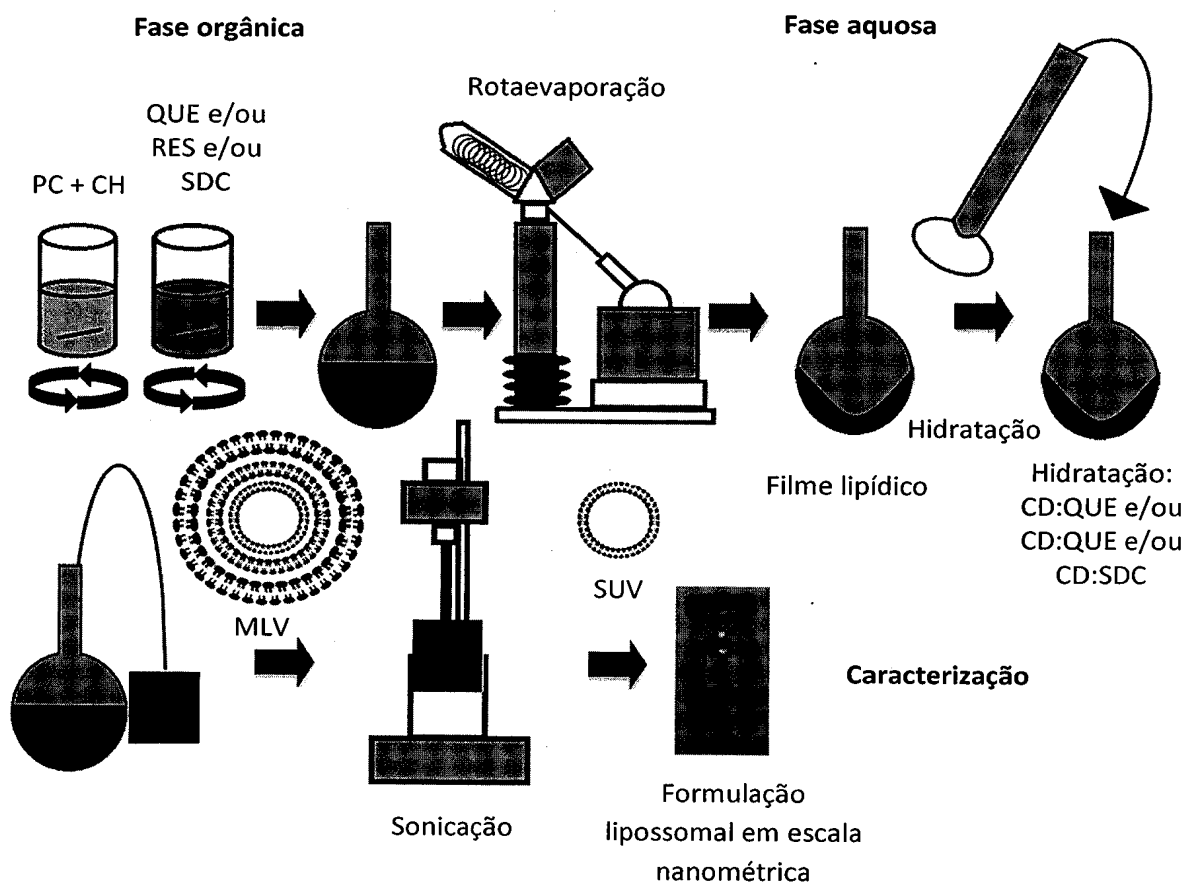
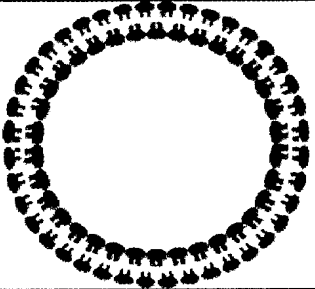
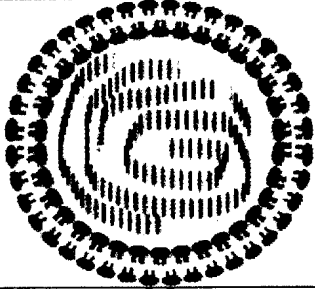
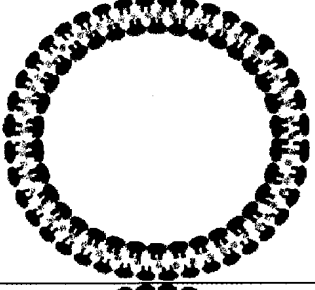
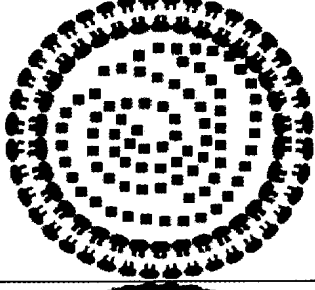
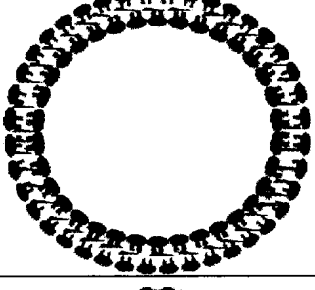
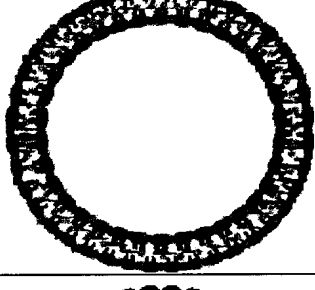
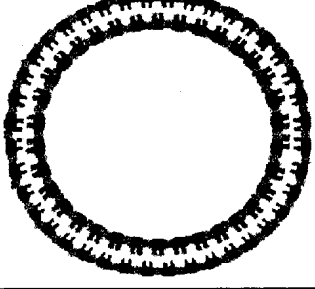
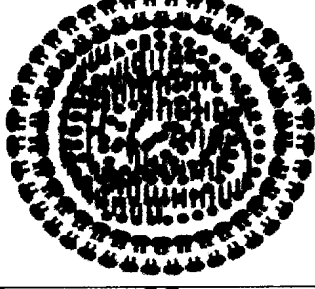
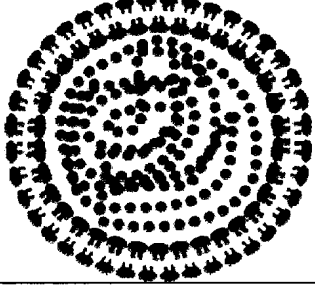
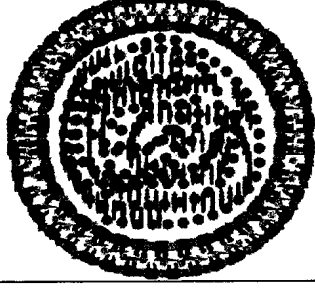


Figura 6

	Esquema de um lipossoma Branco		Esquema de um lipossoma com resveratrol encapsulado na fase aquosa complexado a ciclodextrinas.
	Esquema de um lipossoma com quercetina encapsulada na fase orgânica.		Esquema de um lipossoma com o desoxicolato de sódio encapsulado na fase aquosa complexado a ciclodextrinas.
	Esquema de um lipossoma com resveratrol encapsulado na fase orgânica.		Esquema de um lipossoma com quercetina, resveratrol e desoxicolato de sódio encapsulados na fase orgânica.
	Esquema de um lipossoma com o desoxicolato de sódio encapsulado na fase orgânica.		Esquema de um lipossoma com quercetina, resveratrol e desoxicolato de sódio encapsulados na fase aquosa complexados a ciclodextrinas.
	Esquema de um lipossoma com quercetina encapsulada na fase aquosa complexada a ciclodextrinas.		Esquema de um lipossoma com os fármacos encapsulados na fase orgânica e complexados a ciclodextrinas na fase aquosa

RESUMO

PRODUTO NANOTECNOLÓGICO DE UMA FORMULAÇÃO LIPOSSOMAL ELÁSTICA PARA O TRATAMENTO DA OBESIDADE, LIPOMA, LIPODISTROFIA E GORDURAS SUBCUTÂNEAS. A presente invenção contempla um produto nanotecnológico de uma
5 formulação lipossomal elástica para o tratamento da obesidade, lipoma, lipodistrofia e gorduras subcutâneas utilizando o desoxicolato de sódio, quercetina e resveratrol como componentes ativos, sem a necessidade de posterior remoção desta gordura. Os fármacos citados já possuem ação comprovada contra adipócitos podendo ser
10 empregados por via injetável, além de uma inovadora utilização de forma combinada com seus efeitos sinérgicos para potencializar sua bioatividade.