

(11) Número de Publicação: **PT 1427395 E**

(51) Classificação Internacional:
A61K 9/14 (2007.10) **A61K 31/337** (2007.10)
A61K 31/436 (2007.10)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2002.09.13**

(30) Prioridade(s): **2001.09.14 US 952032**

(43) Data de publicação do pedido: **2004.06.16**

(45) Data e BPI da concessão: **2008.03.17**
098/2008

(73) Titular(es):
ELAN PHARMA INTERNATIONAL LIMITED
MONKSLAND ATHLONE COUNTY WESTMEATH
IE

(72) Inventor(es):
LINDEN WEI **US**
ELAINE MERISKO-LIVERSIDGE **US**

(74) Mandatário:
PEDRO DA SILVA ALVES MOREIRA
RUA DO PATROCÍNIO, N.º 94 1399-019 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **ESTABILIZAÇÃO DE AGENTES ACTIVOS POR FORMULAÇÃO SOB UMA FORMA NANOPARTICULADA**

(57) Resumo:

RESUMO

"ESTABILIZAÇÃO DE AGENTES ACTIVOS POR FORMULAÇÃO SOB UMA FORMA NANOPARTICULADA"

Descrevem-se métodos para estabilizar agentes activos, em particular, agentes farmacêuticos. O método compreende a formação de agentes activos numa composição nanoparticulada, compreendendo o agente activo e, pelo menos, um estabilizador de superfície. O agente activo componente apresenta estabilidade química, mesmo após exposição a, por exemplo, um período de armazenagem prolongado, uma temperatura elevada, luz, radiação, radiação que provoca a fotólise, pH não fisiológico, enzimas ou outros catalisadores, água ou outras moléculas de solventes, agentes oxidantes ou outros radicais livres, ou congelação.

DESCRIÇÃO

"ESTABILIZAÇÃO DE AGENTES ACTIVOS POR FORMULAÇÃO SOB UMA FORMA NANOPARTICULADA"

CAMPO

A presente invenção é dirigida a métodos para estabilizar quimicamente o paclitaxel e fármacos que contêm um anel de lactona macrocíclico, compreendendo a formulação do agente activo numa composição nanoparticulada. A composição nanoparticulada compreende o agente e um ou mais estabilizadores de superfície aderentes à superfície do agente activo.

ANTECEDENTES

A. Sumário da Instabilidade e/ou Degradação de Agentes Activos

Os agentes activos estão sujeitos a degradação. Tal decomposição ou degradação pode ser devido a hidrólise, oxidação, isomerização, epimerização ou fotólise. A velocidade de degradação ou decomposição varia consideravelmente, dependendo da natureza estrutural, física e química do agente activo. A velocidade de decomposição é, também, muitas vezes afectada de modo significativo por numerosos factores ambientais, incluindo a temperatura, luz, radiação, enzimas ou outros catalisadores, pH e força iónica da solução, tipo de solvente e espécies de tampões.

A instabilidade química devido à degradação ou decomposição é altamente indesejável para várias razões. Por exemplo, quando um composto químico é um agente farmacêutico, a degradação diminui a sua eficácia e encurta o seu tempo efectivo de duração em armazenagem. Além disso, a diminuição do teor do ingrediente activo numa preparação farmacêutica torna o cálculo de uma dosagem eficaz imprevisível e difícil. Acresce que o agente químico degradado pode possuir efeitos secundários altamente indesejáveis e mesmo gravemente tóxicos.

Dado que a estabilidade química é um aspecto crítico na concepção e fabrico, assim como no exame regulatório e aprovação de composições farmacêuticas e formas de dosagem, nos últimos anos têm-se realizado estudos exaustivos e sistemáticos sobre os mecanismos e cinéticas de decomposição de agentes farmacêuticos. Para uma breve revisão, ver Alfred Martin, *Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences*, 4ª Edição, pp. 305-312 (Lee & Febiger, Filadélfia, 1993).

B. Métodos Anteriores para Aumentar a Estabilidade de um Composto Químico em Formulações Farmaceuticamente Aceitáveis

Foram idealizados vários métodos para conseguir uma estabilidade química melhorada de um composto, incluindo uma alteração de parâmetros ambientais, tais como o tipo de tampão, pH, temperatura de armazenagem e eliminação de iões catalíticos ou iões necessários para a actividade enzimática, utilizando agentes quelantes.

Outros métodos incluem a conversão do fármaco num pró-fármaco mais estável que, sob condições fisiológicas, é

processado para se tornar uma forma biologicamente activa do composto.

Outro método para melhorar a estabilidade química de agentes farmacêuticos emprega novas concepções de formas de dosagem. As concepções de formas de dosagem que melhoram a estabilidade química de um fármaco, incluem o carregamento de fármacos em lipossomas ou polímeros, e. g., durante a polimerização por emulsão. No entanto, tais técnicas possuem problemas e limitações. Por exemplo, um fármaco solúvel em lípidos é muitas vezes necessário para preparar um lipossoma apropriado. Acresce que podem ser necessárias quantidades inaceitavelmente grandes do lipossoma ou polímero para preparar doses de fármaco unitárias. Acresce ainda, que as técnicas para a preparação de tais composições farmacêuticas tende a ser complexa. Finalmente, a remoção de contaminantes no final do processo de fabrico de polimerização por emulsão, tal como um monómero ou iniciador potencialmente tóxico que não reagiu, pode ser difícil e dispendiosa.

Outro exemplo de uma forma de dosagem que pode ser utilizada para aumentar a estabilidade de um agente administrado é um dispositivo monolítico, que é uma matriz polimérica de controlo de libertação através da qual um fármaco é dissolvido ou disperso. Ainda outro exemplo de tal forma de dosagem é um dispositivo de reservatório, que é uma forma de dosagem de tipo casca com um fármaco contido no interior de uma membrana de controlo de libertação.

Uma forma de dosagem de reservatório exemplificativa é descrita na Pat. U.S. N° 4725442, que se refere a materiais de fármaco insolúveis em água solubilizados num líquido orgânico e incorporados em microcápsulas de fosfolípidos. Uma desvantagem

desta forma de dosagem é os efeitos tóxicos dos líquidos orgânicos solubilizantes. Outros métodos de formação de formas de dosagem de reservatório de microcápsulas de medicamentos incluem a micronização de um fármaco ligeiramente solúvel por agitação de alta velocidade ou fragmentação por impacto de uma mistura do fármaco e um açúcar ou álcool açúcar em conjunto com excipientes ou diluentes apropriados. Ver, e. g., a Patente Europeia EP 411629A. Uma desvantagem deste método é que as partículas de fármaco resultantes são maiores do que as obtidas por moagem. Ainda outro método de formação de uma forma de dosagem de reservatório é dirigido à polimerização de um monómero na presença de um material de fármaco activo e um tensioactivo, para produzir uma microencapsulação de partículas pequenas (*International Journal of Pharmaceutics*, **52**:101-108 (1989)). Este processo, no entanto, produz composições que contêm contaminantes, tais como monómeros tóxicos, que são difíceis de remover. A remoção completa de tais monómeros pode ser dispendiosa, particularmente quando realizada a uma escala industrial. A forma de dosagem de reservatório também pode ser formada por co-dispersão de um fármaco ou um agente farmacêutico em água com gotículas de um polímero de hidrato de carbono (ver, e. g., a Pat. U.S. Nº 4713249 e WO 84/00294). A principal desvantagem deste processo é que em muitos casos, é necessário um co-solvente orgânico solubilizante para o processo de encapsulação. A remoção de vestígios de tais co-solventes prejudiciais pode resultar num processo de fabrico dispendioso.

C. Antecedentes Relativos a Composições Nanoparticuladas

As composições nanoparticuladas, descritas pela primeira vez na Patente U.S. Nº 5145684 ("a patente '684"), são partículas que consistem num agente activo pouco solúvel, tendo

adsorvido sobre a superfície deste, um estabilizador de superfície não reticulado. A patente '684 também descreve métodos de preparação de tais composições nanoparticuladas. A patente '684 ensina que são desejáveis composições nanoparticuladas porque com uma diminuição do tamanho de partícula, e um conseqüente aumento da área superficial, a composição pode apresentar uma biodisponibilidade superior.

Descrevem-se métodos de elaboração de composições nanoparticuladas, por exemplo, nas Patentes U.S. Nº 5518187 e 5862999, ambas para o "Método de Trituração de Substâncias Farmacêuticas"; Patente U.S. Nº 5718388, para o "Método Contínuo de Trituração de Substâncias Farmacêuticas"; e Patente U.S. Nº 5510118 para o "Processo de Preparação de Composições Terapêuticas que contêm Nanopartículas".

As composições nanoparticuladas são também descritas, por exemplo, nas Patentes U.S. Nº 5298262 para a "Utilização de Modificadores do Ponto de Turvação Iônicos para Impedir a Agregação de Partículas Durante a Esterilização"; 5302401 para o "Método para Reduzir o Crescimento do Tamanho de Partícula Durante a Liofilização"; 5318767 para as "Composições de Contraste por Raios-X Úteis em Imagem Médica"; 5326552 para a "Nova Formulação para Agentes de Contraste Nanoparticulados da Fracção Sanguínea por Raios-X, Utilizando Tensioactivos Não iónicos de Elevado Peso Molecular"; 5328404 para o "Método de Imagem por Raios-X Utilizando Propanodioatos Aromáticos Iodinados"; 5336507 para a "Utilização de Fosfolípidos Carregados para Reduzir a Agregação de Nanopartículas"; 5340564 para as "Formulações Compreendendo Olin 10-G para Impedir a Agregação de Partículas e Aumentar a Estabilidade"; 5346702 para a "Utilização de Modificadores do Ponto de Turvação Não Iônicos para Minimizar a Agregação de Nanopartículas Durante a

Esterilização”; 5349957 para a “Preparação e Propriedades Magnéticas de Partículas Dextrano Magnéticas Muito Pequenas”; 5352459 para a “Utilização de Modificadores de Superfície Purificados para Impedir a Agregação de Partículas Durante a Esterilização”; 5399363 e 5494683, ambas para as “Nanopartículas Anticancerígenas com Superfície Modificada”; 5401492 para as “Partículas de Manganês Não Magnéticas Insolúveis em Água como Agentes Intensificadores da Ressonância Magnética”; 5429824 para a “Utilização de Tiloxapol como um Estabilizante Nanoparticulado”; 5447710 para o “Método de Elaboração de Agentes de Contraste Nanoparticulados da Fracção Sanguínea Intravascular por Raios-X, Utilizando Tensioactivos Não iónicos de Elevado Peso Molecular”; 5451393 para as “Composições de Contraste por Raios-X Úteis em Imagem Médica”; 5466440 para as “Formulações de Agentes de Contraste por Raios-X de Diagnóstico Gastrointestinal Oral, em Combinação com Argilas Farmaceuticamente Aceitáveis”; 5470583 para o “Método de Preparação de Composições de Nanopartículas Contendo Fosfolípidos Carregados para Reduzir a Agregação”; 5472683 para os “Anidridos Carbâmicos Mistos de Diagnóstico Nanoparticulados como Agentes de Contraste por Raios-X para a Imagem da Fracção Sanguínea e do Sistema Linfático”; 5500204 para os “Dímeros de Diagnóstico Nanoparticulados como Agentes de Contraste por Raios-X para a Imagem da Fracção Sanguínea e do Sistema Linfático”; 5518738 para as “Formulações de AINES Nanoparticuladas”; 5.521.218 para os “Derivados de Iododipamida Nanoparticulados para Utilização como Agentes de Contraste por Raios-X”; 5525328 para os “Agentes de Contraste por Raios-X de Diatrizoxiéster de Diagnóstico Nanoparticulados para a Imagem da Fracção Sanguínea e do Sistema Linfático”; 5543133 para o “Processo de Preparação de Composições de Contraste por Raios-X Contendo Nanopartículas”; 5552160 para as “Nanopartículas de AINES com Superfície Modificada”; 5560931 para as “Formulações

de Compostos como Dispersões Nanoparticuladas em Óleos ou Ácidos Gordos Digestíveis”; 5565188 para os “Copolímeros de Blocos de Polialquileno como Modificadores de Superfície para Nanopartículas”; 5569448 para o “Tensioactivo de Copolímeros de Blocos Não Iónicos Sulfatados como Revestimentos Estabilizantes para Composições de Nanopartículas”; 5571536 para as “Formulações de Compostos como Dispersões Nanoparticuladas em Óleos ou Ácidos Gordos Digestíveis”; 5573749 para os “Anidridos Carboxílicos Mistos de Diagnóstico Nanoparticulados como Agentes de Contraste por Raios-X para a Imagem da Fracção Sanguínea e do Sistema Linfático”; 5573750 para os “Agentes de Contraste por Raios-X de Imagem de Diagnóstico”; 5573783 para as “Matrizes de Películas Nanoparticuladas Redispersíveis com Revestimento Protector”; 5580579 para a “Adesão de Sítio Específico no Interior do Tracto GI, Utilizando Nanopartículas Estabilizadas por Polímeros de Poli(Óxido de Etileno) Lineares de Elevado Peso Molecular”; 5585108 para as “Formulações de Agentes Terapêuticos Gastrointestinais Oraís em Combinação com Argilas Farmaceuticamente Aceitáveis”; 5587143 para os “Tensioactivos de Copolímeros de Blocos de Óxido de Butileno-Óxido de Etileno como Revestimentos Estabilizantes para Composições Nanoparticuladas”; 5.591.456 para o “Naproxeno Moído com Hidroxipropilcelulose como Estabilizante de Dispersão”; 5593657 para as “Novas Formulações de Sais de Bário Estabilizadas por Estabilizantes Não Iónicos e Aniónicos”; 5622938 para o “Tensioactivo à Base de Açúcar para Nanocristais”; 5628981 para as “Formulações Melhoradas de Agentes de Contraste por Raios-X de Diagnóstico Gastrointestinal Oral e Agentes Terapêuticos Gastrointestinais Oraís”; 5643552 para os “Anidridos Carbónicos Mistos de Diagnóstico Nanoparticulados como Agentes de Contraste por Raios-X para a Imagem da Fracção Sanguínea e do Sistema Linfático”; 5718388 para o “Método Contínuo de Trituração de Substâncias Farmacêuticas”; 5718919 para as “Nanopartículas que Contêm o

Enantiómero R(-) de Ibuprofeno"; 5747001 para os "Aerossóis contendo Dispersões de Nanopartículas de Beclometasona"; 5834025 para a "Redução das Reações Fisiológicas Adversas Induzidas por Formulações Nanoparticuladas Administradas por Via Intravenosa"; 6045829 para as "Formulações Nanocristalinas de Inibidores da Protease do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), Utilizando Estabilizadores de superfície Celulósicos"; 6068858 para os "Métodos de Elaboração Formulações Nanocristalinas de Inibidores da Protease do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), Utilizando Estabilizadores de superfície Celulósicos"; 6153225 para as "Formulações Injectáveis de Naproxeno Nanoparticulado"; 6165506 para a "Nova Forma de Dosagem Sólida de Naproxeno Nanoparticulado"; 6221400 para os "Métodos de Tratamento de Mamíferos Utilizando Formulações Nanocristalinas de Inibidores da Protease do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)"; 6264922 para os "Aerossóis Nebulizados Contendo Dispersões de Nanopartículas"; 6267989 para os "Métodos de Prevenção do Crescimento de Cristais e Agregação de Partículas em Composições de Nanopartículas"; 6270806 para a "Utilização de Lípidos Derivados do PEG como Estabilizadores de superfície para Composições Nanoparticuladas"; 6316029 para a "Forma de Dosagem Sólida Oral Rapidamente Desintegrante," 6375986 para as "Composições Nanoparticuladas de Dose Sólida Compreendendo uma Combinação Sinérgica de um Estabilizador de superfície Polimérico e Dioctil-sulfossuccinato de Sódio"; 6428814 para as "Composições Nanoparticuladas Bioadesivas com Estabilizadores de superfície Catiônicos"; e 6432381 para os "Métodos de Vectorização da Libertação de Fármacos para o Tracto Gastrointestinal Superior e/ou Inferior". Além disso, o Pedido de Patente U.S. Nº 20020012675 A1, publicada a 31 de Janeiro de 2002, para as "Composições Nanoparticuladas de Libertação Controlada", descreve composições nanoparticuladas.

As composições de partículas pequenas amorfas são descritas, por exemplo, nas Patentes U.S. N° 4783484 para a "Composição Particulada e Utilização desta como Agente Antimicrobiano"; 4826689 para o "Método de Elaboração de Partículas de Tamanho Uniforme a partir de Compostos Orgânicos Insolúveis em Água"; 4997454 para o "Método de Elaboração de Partículas de Tamanho Uniforme a partir de Compostos Insolúveis"; 5741522 para as "Partículas Porosas Ultra-pequenas, Não Agregadas e de Tamanho Uniforme, para Retenção de Bolhas de Gás no seu Interior e Métodos"; e 5776496, para as "Partículas Porosas Ultra-pequenas para Aumento da Retrodispersão de Ultrassons".

Em particular, as Patentes U.S. N° 5399363 e 5494683, ambas para as "Nanopartículas Anticancerígenas com Superfície Modificada", referem-se a composições nanoparticuladas de agentes anticancerígenos, incluindo o taxol, também conhecido por paclitaxel. No entanto, estas patentes não abordam um meio de ultrapassar a instabilidade química de um agente activo, tal como o paclitaxel para um pH básico. Especificamente, as duas patentes ensinam métodos de elaboração de composições de paclitaxel nanoparticuladas que são estáveis para um pH de 7,4. No entanto, isto não ensina ou sugere que uma composição de paclitaxel nanoparticulada é estável para um pH elevado, tal como um pH básico de 9.

Estas referências descrevem métodos de aumento da biodisponibilidade de agentes activos pouco solúveis, em que a classe de "agentes activos" abrangida é apenas limitada pela solubilidade do agente activo. Pelo contrário, a presente invenção é dirigida a uma classe de fármacos pouco solúveis, que são instáveis sob uma ou mais condições ambientais especificadas. As duas classes de agentes activos não são

idênticas, dado que todos os agentes activos pouco solúveis não são instáveis sob uma ou mais condições ambientais.

Isto é significativo, dado que o pH varia ao longo do tracto gastrointestinal (GIT). Se um cancro é localizado numa região do GIT que possui um pH básico, a forma convencional de paclitaxel será ineficaz, ou pouco eficaz, dado que o fármaco se degrade para um pH elevado. Este problema pode ser tratado através de formas nanoparticuladas de paclitaxel, que são estáveis para um pH elevado.

A Patente U.S. Nº 5989591 a Nagi, para as “Formulações de Rapamicina para Administração Oral”, refere-se a composições de dose sólida de rapamicina em que a rapamicina pode possuir um tamanho de partícula nanoparticulado. ver Nagi na col. 6, linhas 50-55. No entanto, Nagi não ensina que a composição de rapamicina nanoparticulada é estável quando exposta a um ambiente aquoso. De facto, Nagi ensina que a composição de rapamicina nanoparticulada é formulada numa de forma de dosagem em comprimidos, na qual a rapamicina está presente num revestimento de açúcar sobre um núcleo sólido. ver o Resumo e col. 3, linhas 45-52.

Isto não ensina ou sugere que uma forma de rapamicina instável, *i. e.*, rapamicina exposta a um ambiente aquoso, poderia ser seleccionada e tornada estável sob o mesmo ambiente, pela formulação do fármaco numa composição nanoparticulada. Isto é significativo, dado que as formas de dosagem em comprimidos possuem um início de actividade mais longo, quando comparadas com as formas de dosagem líquidas ou IV. Além disso, muitos doentes infantis e idosos são incapazes de deglutir formas de dosagem em comprimidos.

A Patente U.S. N° 6267989 divulga métodos de prevenção do crescimento de cristais e agregação de partículas em composições de nanopartículas, pela utilização de composições nanoparticuladas moídas para um tamanho médio de partícula eficaz óptimo, de cerca de 150 nm a cerca de 350 nm. A Publicação de Patente Internacional N° WO 99/49846 descreve a utilização de combinações de fosfolípidos naturais ou sintéticos, um modificador de superfície carregado, tal como um fosfolípido carregado altamente purificado e um copolímero de blocos para estabilizar fisicamente as partículas de compostos, para impedir o crescimento de partículas, agregação ou floculação. Assim, tanto o documento U.S. 6267989 como o documento WO 99/49846 descrevem métodos para estabilizar fisicamente composições que contêm partículas, para impedir o crescimento de partículas, crescimento de cristais e agregação das partículas.

Existe uma necessidade na técnica para um método de estabilização de agentes activos, que seja eficaz, económico e que não necessite da adição de solventes potencialmente tóxicos. A presente invenção satisfaz esta necessidade.

SUMÁRIO

A presente invenção baseia-se na verificação de que determinados agentes activos, que são instáveis sob uma ou mais condições ambientais, quando formulados em composições nanoparticuladas, são estáveis sob essas mesmas condições ambientais. Tais condições ambientais podem incluir a degradação química ao longo do tempo, exposição a um pH não fisiológico e exposição a moléculas de solventes.

De acordo com um 1º aspecto da presente invenção, a Requerente proporciona um método para estabilizar quimicamente e, desse modo, reduzir a velocidade de degradação de um fármaco pouco solúvel, seleccionado de paclitaxel e de um fármaco contendo um anel de lactona macrocíclico, compreendendo o método a formulação de partículas de fármaco numa composição de fármaco nanoparticulada estável, através de um método compreendendo a combinação das partículas de fármaco com, pelo menos, um estabilizador de superfície não reticulado, em que após a referida combinação de, pelo menos, um estabilizador de superfície não reticulado, adsorve à superfície das partículas de fármaco, e as referidas partículas de fármaco possuem um tamanho médio de partícula eficaz inferior a cerca de 2 micrones.

O fármaco pode estar presente numa quantidade seleccionada a partir do grupo consistindo de cerca de 99,5% a cerca de 0,001%, de cerca de 95% a cerca de 0,1% e de cerca de 90% a cerca de 0,5%, em peso, com base no peso total combinado de, pelo menos, um fármaco e, pelo menos, um estabilizador de superfície, não incluindo outros excipientes. Pelo menos, um estabilizador de superfície pode estar presente numa quantidade seleccionada do grupo consistindo de cerca de 0,001 a cerca de 99,5%, de cerca de 0,1% a cerca de 95% e de cerca de 0,5% a cerca de 90%, em peso, com base no peso total combinado de, pelo menos, um fármaco e, pelo menos, um estabilizador de superfície, não incluindo outros excipientes. A composição de fármaco nanoparticulada pode possuir um tamanho médio de partícula eficaz, inferior a cerca de 1 micron, inferior a cerca de 600 nm, inferior a cerca de 500 nm, inferior a cerca de 400 nm, inferior a cerca de 300 nm, inferior a cerca de 200 nm, inferior a cerca de 100 nm ou inferior a cerca de 50 nm. A composição de fármaco nanoparticulada pode estar presente numa formulação

injectável. O fármaco pode ser rapamicina. A rapamicina pode ser estável após exposição a condições de hidrólise. O fármaco pode ser paclitaxel. O paclitaxel pode ser estável após exposição a condições de pH básicas. As partículas de fármaco podem estar presentes numa fase cristalina ou numa fase amorfa.

A invenção é dirigida a um processo para estabilizar quimicamente e, desse modo, reduzir a velocidade de degradação de um fármaco pouco solúvel, seleccionado de paclitaxel e de um fármaco contendo um anel de lactona macrocíclico, compreendendo a formulação de partículas de fármaco numa composição nanoparticulada estável. A composição nanoparticulada compreende o fármaco pouco solúvel e um ou mais estabilizadores de superfície não reticulados, adsorvidos sobre a superfície do fármaco. As composições nanoparticuladas possuem um tamanho médio de partícula eficaz inferior a cerca de dois micrones.

De uma forma preferida, o processo é um processo para estabilizar a rapamicina, que é instável quando exposta à água, que compreende a formação de uma formulação de rapamicina nanoparticulada, com um ou mais estabilizadores de superfície não reticulados adsorvidos sobre a superfície do fármaco. A composição de rapamicina nanoparticulada resultante apresenta uma estabilidade significativamente superior, quando exposta à água. A composição farmacêutica compreende, de uma forma preferida, um suporte farmaceuticamente aceitável, assim como quaisquer excipientes desejados.

O processo também pode ser utilizado para estabilizar o paclitaxel, que é instável quando exposto a um pH básico, compreendendo a formação de uma composição de paclitaxel nanoparticulada, com um ou mais estabilizadores de superfície não reticulados adsorvidos sobre a superfície do fármaco. A

composição de paclitaxel nanoparticulada resultante apresenta uma estabilidade significativamente superior quando exposta a um pH básico. A composição farmacêutica compreende, de uma forma preferida, um suporte farmaceuticamente aceitável, assim como quaisquer excipientes desejados.

BREVE DESCRIÇÃO DA FIGURA

Figura 1: Ilustra o efeito de NaOH 0,005 N (um nível de pH básico) na velocidade de degradação de paclitaxel, quando comparado com a velocidade de degradação de uma formulação nanoparticulada de paclitaxel.

DESCRIÇÃO PORMENORIZADA

A presente invenção é dirigida a um método para estabilizar um fármaco pouco solúvel, seleccionado de paclitaxel e de um fármaco contendo um anel de lactona macrocíclico, de forma a reduzir a velocidade de degradação do fármaco, compreendendo a formulação de um fármaco numa composição nanoparticulada. O fármaco nanoparticulado é estável sob uma ou mais condições ambientais idênticas, sob as quais o fármaco é instável antes da formulação numa composição nanoparticulada. Tais uma ou mais condições ambientais que podem provocar a degradação do fármaco incluem a degradação química ao longo do tempo, exposição um pH não fisiológico e exposição a moléculas de solventes.

O método compreende a formulação de partículas do fármaco numa composição nanoparticulada estável. O passo de formulação compreende a combinação das partículas de fármaco e, pelo menos, um estabilizador de superfície não reticulado, em que após

combinação de, pelo menos, um estabilizador de superfície não reticulado, adsorve à superfície das partículas de fármaco, para produzir uma composição nanoparticulada, em que as partículas de fármaco possuem um tamanho médio de partícula eficaz inferior a cerca de 2 micrones.

O método reivindicado é distinto dos métodos da técnica anterior de elaboração de composições nanoparticuladas, dado que os métodos anteriores não ensinavam que um fármaco seleccionado de paclitaxel e de um fármaco contendo um anel de lactona macrocíclico pode ser tornado estável pela formulação do fármaco numa composição nanoparticulada. Em vez disso, os métodos anteriores de elaboração de composições nanoparticuladas ensinam que as composições nanoparticuladas são desejáveis, dado que podem aumentar a biodisponibilidade do agente activo componente. ver, e. g., a Patente U.S. Nº 5145684.

A presente invenção permite a utilização destes fármacos que apenas podiam ser utilizáveis sob condições limitadas, anteriormente à presente invenção. Por exemplo, o paclitaxel, um fármaco que apenas é estável sob determinadas condições de pH, pode ser formulado para administração a qualquer nível de pH desejado. Isto é desejável, dado que o pH varia ao longo do tracto gastrointestinal humano. De modo semelhante, os fármacos que são instáveis quando expostos a temperaturas elevadas, podem ser esterilizados a quente sem degradação, quando formulados numa composição nanoparticulada. Isto pode ser útil na administração de fármacos a doentes muito jovens ou imunocomprometidos. Além disso, a rapamicina, um fármaco que é instável quando exposto à água (*i. e.*, hidrólise), pode ser formulado para administração sob uma forma líquida. Isto pode ser benéfico, dado que as formas de dosagem em comprimidos possuem um início de actividade mais longo, quando comparadas

com as formas de dosagem líquidas ou IV. Além disso, muitos doentes infantis e idosos são incapazes de deglutir formas de dosagem em comprimidos.

A. Agentes Activos e Fármacos Formulados em Composições Nanoparticuladas Apresentam Estabilidade Acrescida do Agente Activo Componente

A instabilidade química devido a degradação é usualmente um resultado da hidrólise, oxidação, isomerização, epimerização ou fotólise. Para além da natureza estrutural, física e química do agente activo, a velocidade de degradação é muitas vezes determinada por numerosos factores ambientais, incluindo a temperatura, luz, radiação, enzimas ou outros catalisadores, pH e força iónica da solução, tipo de solvente ou espécie de tampão. Embora não pretendendo ater-se à teoria, uma possibilidade é que as moléculas do estabilizador de superfície blindam o fármaco protegendo, desse modo, grupos químicos potencialmente lábeis do agente activo, do ambiente potencialmente hostil. Outra possibilidade é que para uma partícula de fármaco cristalina, a estrutura cristalina numa formulação de dimensão nanoparticular resulta numa maior estabilidade do agente activo.

Por exemplo, a rapamicina degrada-se rapidamente quando exposta a um ambiente aquoso. O esquema de degradação principal da rapamicina é a clivagem do anel de lactona macrocíclico pela hidrólise de uma ligação de éster, para formar um seco-ácido (SECO). O seco-ácido sofre uma desidratação e isomerização posteriores, para formar análogos da dicetomorfolina.

No entanto, como se descreve nos exemplos seguintes, quando a rapamicina é formulada numa composição nanoparticulada, não se observa qualquer degradação ou observa-se uma degradação mínima da rapamicina, mesmo após exposição prolongada a um meio aquoso.

Outro exemplo de um fármaco que é instável sob determinadas condições ambientais, mas que é estável numa formulação nanoparticulada sob essas mesmas condições ambientais, é o paclitaxel. Por exposição a um pH básico (*i. e.*, um pH de cerca de 9), o paclitaxel degrada-se rapidamente. Ringel *et al.*, *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 242:692-698 (1987). No entanto, quando o paclitaxel é formulado numa composição nanoparticulada, não se observa qualquer degradação ou observa-se uma degradação mínima do paclitaxel, mesmo quando a composição é exposta a um pH básico.

B. Métodos de Preparação da Composições Nanoparticuladas

1. Componentes de Fármaco e Estabilizador de superfície

O método de estabilização de um fármaco compreende a formulação do fármaco numa formulação nanoparticulada. A formulação de agente activo nanoparticulada compreende, pelo menos, um fármaco e um ou mais estabilizadores de superfície adsorvidos à superfície do(s) fármaco(s).

a. Partículas de Fármaco

As nanopartículas compreendem um fármaco, seleccionado de paclitaxel e de um fármaco contendo um anel de lactona macrocíclico. O fármaco possui um ou mais grupos labéis ou

apresenta instabilidade química quando exposto a determinadas condições ambientais, tais como, períodos de armazenagem prolongados, temperatura elevada, pH não fisiológico, luz, radiação, radiação que provoca a fotólise, enzimas ou outros catalisadores, água (que pode provocar a hidrólise), moléculas de solventes, agentes oxidantes, radicais livres e ciclos térmicos de congelação-descongelação. Os fármacos podem ter, por exemplo, utilizações em cosmética, diagnóstico ou bioengenharia.

O fármaco pode estar presente quer substancialmente sob a forma de um enantiómero opticamente puro quer como uma mistura, racémica ou outra, de enantiómeros.

Um fármaco terapêutico pode ser um medicamento, incluindo produtos biológicos, tais como proteínas e péptidos, e um fármaco de diagnóstico é, de modo típico, um agente de contraste, tal como um agente de contraste por raios-X, ou qualquer outro tipo de material de diagnóstico. A partícula de fármaco existe como uma fase cristalina, fase amorfa, fase semi-cristalina, fase semi-amorfa, discreta, ou como uma combinação destas. A fase cristalina difere de uma fase não cristalina ou amorfa que resulta de técnicas de precipitação, tais como as descritas na Patente EP N° 275796.

O fármaco está presente, de uma forma preferida, sob uma forma essencialmente pura, é pouco solúvel e é dispersível em, pelo menos, um meio líquido. Por “pouco solúvel”, entende-se que o fármaco possui uma solubilidade num meio de dispersão líquido inferior a cerca de 30 mg/mL, inferior a cerca de 10 mg/mL ou inferior a cerca de 1 mg/mL. O meio de dispersão pode ser, por exemplo, água, óleo de cártamo, etanol, t-butanol, glicerina, polietilenoglicol (PEG), hexano ou glicol.

O fármaco é seleccionado de paclitaxel e de um fármaco contendo um anel de lactona macrocíclico.

b. Estabilizadores de superfície

Os estabilizadores de superfície úteis exemplificativos incluem, mas não estão limitados a, excipientes farmacêuticos orgânicos e inorgânicos conhecidos. Tais excipientes incluem vários polímeros, oligómeros de baixo peso molecular, produtos naturais e tensioactivos. Os estabilizadores de superfície preferidos incluem os tensioactivos não iónicos, catiónicos e iónicos. Podem utilizar-se na invenção combinações de mais do que um estabilizador de superfície. Os estabilizadores de superfície não interactivam quimicamente com as partículas de agente activo e as moléculas adsorvidas individualmente do estabilizador de superfície estão essencialmente isentas de reticulações intermoleculares.

Os exemplos representativos de estabilizadores de superfície incluem a hidroxipropilmetilcelulose, hidroxipropilcelulose, polivinilpirrolidona, copolímeros aleatórios de vinilpirrolidona e acetato de vinilo, laurilsulfato de sódio, dioctilsulfossuccinato, gelatina, caseína, lecitina (fosfatídeos), dextrano, goma de acácia, colesterol, goma de tragacanto, ácido esteárico, cloreto de benzalcónio, estearato de cálcio, monoestearato de glicerol, álcool cetosteárico, cera emulsionante de cetomacrogol, ésteres de sorbitano, éteres de polioxietileno-alquilo (e. g., éteres de macrogol, tais como o cetomacrogol 1000), derivados de polioxietileno e óleo de rícino, ésteres de ácidos gordos de polioxietileno e sorbitano (e. g., os Tweens® disponíveis comercialmente, tais como, e. g., Tween 20® e Tween 80® (ICI

Speciality Chemicals)); polietilenoglicóis (e. g., Carbowaxs 3550® e 934® (Union Carbide)), estearatos de polioxietileno, dióxido de silício coloidal, fosfatos, carboximetilcelulose de cálcio, carboximetilcelulose de sódio, metilcelulose, hidroxietilcelulose, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose, celulose não cristalina, silicato de magnésio e alumínio, trietanolamina, álcool polivinílico (PVA), polímero de 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenol com óxido de etileno e formaldeído (também conhecido por tiloxapol, superiora e triton), poloxâmeros (e. g., Pluronic F68® e F108®, que são copolímeros de blocos de óxido de etileno e óxido de propileno); poloxaminas (e. g., Tetronic 908®, também conhecido por Poloxamine 908®, que é um copolímero de blocos tetrafuncional derivado da adição sequencial de óxido de propileno e óxido de etileno à etilenodiamina (BASF Wyandotte Corporation, Parsippany, N.J.)); Tetronic 1508® (T-1508) (BASF Wyandotte Corporation), Tritons X-200®, que é um alquilarilpoliétersulfonato (Rohm e Haas); Crodestas F-110®, que é uma mistura de estearato de sacarose e diestearato de sacarose (Croda Inc.); p-isononilfenoxipoli-(glicidol), também conhecido por Olin-10G® ou Surfactant 10-G® (Olin Chemicals, Stamford, CT); Crodestas SL-40® (Croda, Inc.); e SA90HCO, que é $C_{18}H_{37}CH_2C(O)N(CH_3)-CH_2(CHOH)_4(CH_2OH)_2$ (Eastman Kodak Co.); decanoil-N-metilglicamida; n-decil- β -D-glicopiranósido; n-decil- β -D-maltopiranósido; n-dodecil- β -D-glicopiranósido; n-dodecil- β -D-maltósido; heptanoil-N-metilglicamida; n-heptil- β -D-glicopiranósido; n-heptil- β -D-tioglicósido; n-hexil- β -D-glicopiranósido; nonanoil-N-metilglicamida; n-noil- β -D-glicopiranósido; octanoil-N-metilglicamida; n-octil- β -D-glicopiranósido; octil- β -D-tioglicopiranósido; PEG-fosfolípido, PEG-colesterol, PEG-derivado de colesterol, PEG-vitamina A, PEG-vitamina E, lisozima e semelhantes.

Os exemplos de estabilizadores de superfície catiónicos úteis incluem, mas não estão limitados a polímeros, biopolímeros, polissacáridos, celulósicos, alginatos, fosfolípidos e compostos não poliméricos, tais como os estabilizantes zwitteriônicos, poli-n-metilpiridínio, cloreto de antriulpiridínio, fosfolípidos catiónicos, quitosano, polilisina, polivinilimidazole, polibreno, polimetilmetacrilato de brometo de trimetilamónio (PMMTMABr), brometo de hexildeciltrimetilamónio (HDMAB) e dimetilsulfato de polivinilpirrolidona-2-dimetilaminoetil- metacrilato.

Outros estabilizadores catiónicos úteis incluem, mas não estão limitados a lípidos catiónicos, sulfónio, fosfónio e compostos de amónio quaternário, tais como cloreto de esteariltrimetilamónio, brometo de benzil-di(2-cloro-etil)etilamónio, cloreto ou brometo de trimetilamónio de coco, cloreto ou brometo de metildi-hidroxietilamónio de coco, cloreto de deciltri-etilamónio, cloreto ou brometo de decildimetil-hidroxietilamónio, cloreto ou brometo de C₁₂₋₁₅dimetil-hidroxietilamónio, cloreto ou brometo de dimetil-hidroxietilamónio de coco, metilsulfato de miristiltrimetilamónio, cloreto ou brometo de laurildimetilbenzilamónio, cloreto ou brometo de laurildimetil(etenoxy)₄amónio, cloreto de N-alkuil(C₁₂₋₁₈)-dimetilbenzilamónio, cloreto de N-alkuil(C₁₄₋₁₈)dimetilbenzilamónio, cloreto de N-tetradecildimetilbenzilamónio monohidratado, cloreto de dimetildidecilamónio, cloreto de N-alkuil e (C₁₂₋₁₄)dimetil-1-naptilmetilamónio, halogeneto de trimetilamónio, sais de alkultrimetilamónio e sais de dialquildimetilamónio, cloreto de lauriltrimetilamónio, sal de alkuilamidoalkulidialquilamónio etoxilado e/ou uma sal de trialquilamónio etoxilado, cloreto de dialquilbenzeno-dialquilamónio, cloreto de N-didecildimetilamónio, cloreto de

N-tetradecildimetilbenzilamónio mono-hidratado, cloreto de N-alquil(C_{12-14})dimetil-1-naftilmetilamónio e cloreto de dodecildimetilbenzilamónio, cloreto de dialquilbenzeno-alquilamónio, cloreto de lauriltrimetilamónio, cloreto de alquilbenzilmetilamónio, brometo de alquilbenzildimetil-amónio, brometos de C_{12} , C_{15} , C_{17} -trimetilamónio, cloreto de dodecilbenziltriethylamónio, cloreto de poli-dialildimetil-amónio (DADMAC), cloretos de dimetilamónio, halogenetos de alquildimetilamónio, cloreto de tricetilmetilamónio, brometo de deciltrimetilamónio, brometo de dodeciltriethyl-amónio, brometo de tetradeciltrimetilamónio, cloreto de metiltriethylamónio (ALQUAT 336™), POLYQUAT 10™, brometo de tetrabutylamónio, brometo de benziltrimetil-amónio, ésteres de colina (tais como os ésteres de colina de ácidos gordos), cloreto de benzalcónio, compostos de cloreto de estearalcónio (tais como o cloreto de esteariltrimónio e o cloreto de Diestearildimónio), brometo ou cloreto de cetilpiridínio, sais de halogenetos de polioxiethylalquilaminas quaternizadas, MIRAPOL™ e ALKAQUAT™ (Alkaril Chemical Company), sais de alquilpiridínio; aminas, tais como alquilaminas, dialquilaminas, alcanolaminas, polietilenopoliaminas, acrilatos de N,N-dialquilaminoalquilo e vinilpiridina, sais de aminas, tais como o acetato de laurilamina, acetato de estearilamina, sal de alquilpiridínio e sal de alquilimidazólio e óxidos de aminas; sais de imidazolínio; acrilamidas quaternárias protonadas; polímeros quaternários metilados, tais como poli[cloreto de dialildimetilamónio] e poli[cloreto de N-metilvinilpiridínio]; e goma de guar catiónica.

Tais estabilizadores de superfície catiónicos exemplificativos e outros estabilizadores catiónicos úteis de superfície são descritos em J. Cross e E. Singer, *Cationic Surfactants: Analytical and Biological Evaluation* (Marcel

Dekker, 1994); P. e D. Rubingh (Editor), *Cationic Surfactants: Physical Chemistry* (Marcel Dekker, 1991); e J. Richmond, *Cationic Surfactants: Organic Chemistry* (Marcel Dekker, 1990).

Os estabilizadores primários não poliméricos particularmente preferidos são qualquer composto não polimérico, como o cloreto de benzalcónio, um composto de carbónio, um composto de fosfónio, um composto de oxónio, um composto de halónio, um composto organometálico catiónico, um composto de fósforo quaternário, um composto de piridínio, um composto de anilínio, um composto de amónio, um composto de hidroxilamónio, um composto de amónio primário, um composto de amónio secundário, um composto de amónio terciário e compostos de amónio quaternário da fórmula $NR_1R_2R_3R_4^{(+)}$. Para os compostos da fórmula $NR_1R_2R_3R_4^{(+)}$:

- (i) nenhum de R_1-R_4 é CH_3 ;
- (ii) um de R_1-R_4 é CH_3 ;
- (iii) três de R_1-R_4 são CH_3 ;
- (iv) todos de R_1-R_4 são CH_3 ;
- (v) dois de R_1-R_4 são CH_3 , um de R_1-R_4 é $C_6H_5CH_2$ e um de R_1-R_4 é uma cadeia de alquilo de sete ou menos átomos de carbono;
- (vi) dois de R_1-R_4 são CH_3 , um de R_1-R_4 é $C_6H_5CH_2$, e um de R_1-R_4 é uma cadeia de alquilo de dezanove ou mais átomos de carbono;
- (vii) dois de R_1-R_4 são CH_3 e um de R_1-R_4 é o grupo $C_6H_5(CH_2)_n$, onde $n > 1$;
- (viii) dois de R_1-R_4 são CH_3 , um de R_1-R_4 é $C_6H_5CH_2$ e um de R_1-R_4 compreende, pelo menos, um heteroátomo;
- (ix) dois de R_1-R_4 são CH_3 , um de R_1-R_4 é $C_6H_5CH_2$ e um de R_1-R_4 compreende pelo menos um halogéneo;
- (x) dois de R_1-R_4 são CH_3 , um de R_1-R_4 é $C_6H_5CH_2$ e um de R_1-R_4 compreende, pelo menos, um fragmento cíclico;

- (xi) dois de R_1-R_4 são CR_3 e um de R_1-R_4 é um anel de fenilo;
ou
- (xii) dois de R_1-R_4 são CH_3 e dois de R_1-R_4 são fragmentos puramente alifáticos.

Tais compostos incluem, mas não estão limitados a cloreto de be-henalcónio, cloreto de benzetónio, cloreto de cetilpiridínio, cloreto de be-hentrimónio, cloreto de lauralcónio, cloreto de cetalcónio, brometo de cetrímónio, cloreto de cetrímónio, fluoridrato de cetilamina, cloreto de cloralilmetenamina (Quaternium-15), cloreto de diestearildimónio (Quaternium-5), cloreto de dodecildimetil-etilbenzilamónio (Quaternium-14), Quaternium-22, Quaternium-26, Quaternium-18 hectorite, cloridrato de cloreto de dimetilaminoetilo, cloridrato de cisteína, POE (10)-oletiléter-fosfato de dietanolamónio, POE (3)-oleiléter-fosfato de dietanolamónio, cloreto de sebo-alcónio, dimetildioctadecilamóniobentonite, cloreto de estearalcónio, brometo de domifeno, benzoato de denatónio, cloreto de miristalcónio, cloreto de laurtrimónio, dicloridrato de etilenodiamina, cloridrato de guanidina, piridoxina-HCl, cloridrato de lofetamina, cloridrato de meglumina, cloreto de metilbenzetónio, brometo de mirtrimónio, cloreto de oleiltrimónio, poliquaternium-1, cloridrato de procaína, cocobetaina, estearalcónio-bentonite, estearalcónio-hectorite, difluoridrato de esteariltri-hidroxietilpropilenodiamina, cloreto de sebo-trimónio e brometo de hexadeciltrimetilamónio.

A maior parte destes estabilizadores de superfície são excipientes farmacêuticos conhecidos e são descritos em pormenor em *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, publicado conjuntamente pela American Pharmaceutical Association e The Pharmaceutical Society of Great Britain (The Pharmaceutical

Press, 2000). Os estabilizadores de superfície estão disponíveis comercialmente e/ou podem ser preparados por técnicas conhecidas na matéria.

c. Fármaco Nanoparticulado/Tamanho de Partícula do Estabilizador de superfície

As composições podem conter partículas de fármaco nanoparticuladas que possuem um tamanho médio de partícula eficaz inferior a cerca de 2 micrones, inferior a cerca de 1 micron, inferior a cerca de 600 nm, inferior a cerca de 500 nm, inferior a cerca de 400 nm, inferior a cerca de 300 nm, inferior a cerca de 200 nm, inferior a cerca de 100 nm, ou inferior a cerca de 50 nm, como medido por métodos de dispersão de luz, microscopia ou outros métodos apropriados.

O termo “um tamanho médio de partícula eficaz inferior a cerca de 2 micrones”, significa que, pelo menos, 50% das partículas de fármaco possuem um tamanho médio de partícula ponderado inferior a cerca de 2 micrones, quando medido por técnicas de dispersão de luz, microscopia ou outros métodos apropriados. De uma forma preferida, pelo menos, 70% das partículas de fármaco possuem um tamanho médio de partícula inferior a cerca de 2 micrones, de uma forma mais preferida, pelo menos 90% das partículas de fármaco possuem um tamanho médio de partícula inferior a cerca de 2 micrones e, de uma forma ainda mais preferida, pelo menos, cerca de 95% das partículas possuem um tamanho médio de partícula ponderado inferior a cerca de 2 micrones.

d. Concentração de Fármaco Nanoparticulado e de Estabilizador de superfície

A quantidade relativa de fármaco e de um ou mais estabilizadores de superfície podem variar muito. A quantidade óptima de um ou mais estabilizadores de superfície pode depender, por exemplo, do fármaco particular seleccionado, do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (HLB), ponto de fusão e solubilidade na água do estabilizador de superfície, e da tensão superficial de soluções aquosas do estabilizador de superfície, etc.

A concentração de, pelo menos, um fármaco pode variar de cerca de 99,5% a cerca de 0,001%, de cerca de 95% a cerca de 0,1%, ou de cerca de 90% a cerca de 0,5% em peso, com base no peso total combinado de, pelo menos, um fármaco e de, pelo menos, um estabilizador de superfície, não incluindo outros excipientes.

A concentração de, pelo menos, um estabilizador de superfície pode variar de cerca de 0,001 a cerca de 99,5%, de cerca de 0,1 % a cerca de 95%, e de cerca de 0,5% a cerca de 90%, em peso, com base no peso total combinado de, pelo menos, um fármaco e de, pelo menos, um estabilizador de superfície, não incluindo outro excipientes.

2. Métodos de Elaboração de Formulações Nanoparticuladas

As composições de agente de fármaco nanoparticuladas podem ser elaboradas utilizando métodos conhecidos na técnica, tais como, por exemplo, técnicas de moagem, homogeneização e precipitação. Os métodos exemplificativos de elaboração de

composições nanoparticuladas são descritos na Patente U.S. N° 5145684. Os métodos de elaboração de composições nanoparticuladas são também descritos nas Patentes U.S. N° 5518187; 5718388; 5862999; 5665331; 5662883; 5560932; 5.543.133; 5534270; 5510118; e 5470583.

1. Moagem para se Obterem Dispersões de Agente Activo Nanoparticuladas

A moagem de um agente activo para se obter uma composição nanoparticulada compreende a dispersão das partículas de agente activo num meio de dispersão líquido em que o agente activo é pouco solúvel, seguida pela aplicação de meios mecânicos na presença de meios de trituração, para reduzir o tamanho de partícula das partículas de agente activo para o tamanho médio de partícula eficaz desejado. O meio de dispersão pode ser, por exemplo, água, óleo de cártamo, etanol, t-butanol, glicerina, polietilenoglicol (PEG), hexano ou glicol.

O tamanho das partículas de agente activo pode ser reduzido na presença de, pelo menos, um estabilizador de superfície. Em alternativa, as partículas de agente activo podem ser postas em contacto com um ou mais estabilizadores de superfície, após desgaste. Outros compostos, tal como um diluente, pode ser adicionado à composição de agente activo/estabilizador de superfície durante o processo de redução de tamanho. As dispersões podem ser fabricadas em contínuo ou em modo de lote. A dispersão de agente activo nanoparticulada resultante pode ser utilizada em formulações de dosagem sólidas ou líquidas, tais como formulações de libertação controlada, formulações de dose sólida de dissolução rápida, formulações de aerossóis,

formulações liofilizadas, comprimidos, cápsulas, pastilhas sólidas, pós, etc.

2. Precipitação para se Obterem Composições de Agente Activo Nanoparticuladas

Outro método de formação da composição de agente activo nanoparticulada desejada é por microprecipitação. Este é um método de preparação de dispersões estáveis de agentes activos pouco solúveis, na presença de um ou mais estabilizadores de superfície e de um ou mais agentes activos de superfície intensificadores da estabilidade coloidal isentos de qualquer vestígio de solventes tóxicos ou impurezas de metais pesados solubilizadas. Um tal método compreende, por exemplo: (1) dissolução de um agente activo num solvente apropriado; (2) adição da formulação do passo (1) a uma solução que compreende, pelo menos, um estabilizador de superfície; e (3) precipitação da formulação do passo (2) utilizando de um não solvente apropriado. O método pode ser seguido pela remoção de qualquer sal formado, se presente, por diálise ou diafiltração e concentração da dispersão através de meios convencionais. A dispersão de agente activo nanoparticulada resultante pode ser utilizada em formulações de dosagem sólidas ou líquidas, tais como formulações de libertação controlada, formulações de dose sólida de dissolução rápida, formulações de aerossóis, formulações liofilizadas, comprimidos, cápsulas, pastilhas sólidas, pós, etc.

3. Homogeneização para se Obterem Composições Nanoparticuladas de Agente Activo

Os métodos de homogeneização exemplificativos de preparação de composições nanoparticuladas de agente activo são descritas na Patente U.S. Nº 5510118, para o "Processo de Preparação de Composições Terapêuticas que contêm Nanopartículas".

C. Métodos de Utilização de Formulações de Agente Activo Nanoparticuladas

As composições nanoparticuladas fabricadas pelos métodos da presente invenção podem ser administradas a humanos e animais, tanto por via oral, rectal, parentérica (intravenosa, intramuscular ou subcutânea), intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, local (pós, pomadas ou rebuçados), como por pulverizador bucal ou nasal.

As composições apropriadas para injeção parentérica podem compreender soluções, dispersões, suspensões ou emulsões aquosas ou não aquosas estéreis fisiologicamente aceitáveis e pós estéreis para reconstituição em soluções ou dispersões injectáveis estéreis. Os exemplos de suportes, diluentes, solventes ou veículos aquosos e não aquosos apropriados, incluem água, etanol, polióis (propilenoglicol, polietilenoglicol, glicerol e semelhantes), misturas apropriadas destes, óleos vegetais (tais como azeite) e ésteres orgânicos injectáveis, tal como o oleato de etilo.

A fluidez apropriada pode ser mantida, por exemplo, pela utilização de um revestimento, tal como lecitina, pela manutenção de tamanho de partícula necessário no caso de

dispersões e pela utilização de tensioactivos. As composições nanoparticuladas podem igualmente conter adjuvantes, tais como agentes conservantes, molhantes, emulsionantes e dispersantes. A prevenção do crescimento de microorganismos pode ser assegurada por vários agentes antibacterianos e antifúngicos, tais como os parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico e semelhantes. Também pode ser desejável incluir agentes isotónicos, tais como açúcares, cloreto de sódio e semelhantes. A absorção prolongada da forma farmacêutica injectável pode ser ocasionada pela utilização de agentes que atrasam a absorção, tais como o monoestearato de alumínio e a gelatina.

As formas de dosagem sólidas para administração por via oral incluem cápsulas, comprimidos, drageias, pós e grânulos. Em tais formas de dosagem sólidas, o composto activo é misturado com, pelo menos, um dos seguintes: (a) um ou mais excipientes inertes (ou suporte), tal como o citrato de sódio ou o fosfato dicálcico; (b) cargas ou agentes de extensão, tais como os amidos, lactose, sacarose, glicose, manitol e ácido silícico; (c) ligantes, tais como a carboximetilcelulose, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarose e goma de acácia; (d) humidificantes, tais como o glicerol; (e) agentes desintegrantes, tais como agar-agar, carbonato de cálcio, amido de batata ou tapioca, ácido algínico, determinados silicatos complexos e carbonato de sódio; (f) retardadores de solução, tais como parafina; (g) aceleradores de absorção, tais como compostos de amónio quaternário; (h) agentes molhantes, tais como álcool cetílico e monoestearato de glicerol; (i) adsorventes, tais como caulino e bentonite; e (j) lubrificantes, tais como talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietilenoglicóis sólidos, laurilsulfato de sódio ou suas misturas. Para cápsulas, comprimidos e drageias, as formas de dosagem podem compreender também agentes tampão.

As formas de dosagem líquidas para administração oral incluem as emulsões, soluções, suspensões, xaropes e elixires farmacologicamente aceitáveis. Além disso, para os compostos activos, as formas de dosagem líquidas podem compreender diluentes inertes comumente utilizados na técnica, tais como água ou outros solventes, agentes solubilizantes e emulsionantes. Os emulsionantes exemplificativos são, álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, álcool benzílico, benzoato de benzilo, propilenoglicol, 1,3-butilenoglicol, dimetilformamida, óleos, tais como óleo de algodão, óleo de amendoim, óleo de gérmen de milho, azeite, óleo de rícino e óleo de sésamo, glicerol, álcool tetra-hidrofurfurílico, polietilenoglicóis, ésteres de ácidos gordos de sorbitano ou misturas destas substâncias e semelhantes.

Além de tais diluentes inertes, a composição pode também incluir adjuvantes, tais como agentes molhantes, agentes emulsionantes e de suspensão, edulcorantes, aromatizantes e agentes perfumantes.

Os níveis de dosagem reais de fármaco nas composições nanoparticuladas da invenção podem variar, para se obter uma quantidade de agente activo que é eficaz para se obter uma resposta terapêutica desejada para uma composição e método de administração particulares. O nível de dosagem seleccionado depende, em consequência, do efeito terapêutico desejado na via de administração, na duração desejada de tratamento e outros factores.

A dose diária total dos compostos administrados a um hospedeiro numa dose única ou dividida, pode ser em quantidades

de, por exemplo, cerca de 1 nanomole a cerca de 5 micromoles por quilograma de peso corporal. As composições de dosagem unitária podem conter tais quantidades de tais submúltiplos desta, dado que podem ser utilizadas para perfazer a dose diária. Reconhecer-se-á, no entanto, que o nível de dosagem específico para qualquer doente particular, dependerá de uma variedade de factores, incluindo o peso corporal, estado de saúde em geral, sexo, dieta, tempo e via de administração, taxas de absorção e excreção, combinação com outros agentes activos e a gravidade da doença particular a tratar.

Os exemplos seguintes são apresentados para ilustrar a presente invenção.

Exemplo 1

A finalidade deste exemplo foi a de determinar o efeito sobre a estabilidade de paclitaxel a um pH básico, quando o fármaco é formulado numa composição nanoparticulada.

O paclitaxel é um diterpenóide de ocorrência natural que tem demonstrado um grande potencial como um fármaco anti-cancerígeno. O paclitaxel pode ser isolado da casca do teixo do Pacífico, *Taxus brevifolia*, e é também encontrado em várias outras espécies de teixo, tais como *T. baccata* e *T. cuspidata*. Por exposição a um pH básico (*i. e.*, um pH de cerca de 9), o fármaco degrada-se rapidamente. Ringel *et al.*, *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 242:692-698 (1987).

Prepararam-se duas formulações de paclitaxel: uma formulação solubilizada de paclitaxel e uma formulação nanoparticulada de paclitaxel. Comparou-se em seguida a

degradação de paclitaxel para ambas as formulações. Para a Formulação I, o paclitaxel (Biolyse; Quebec, Canadá) foi solubilizado em 1% de metanol e 99% de H₂O, para se obter uma solução de paclitaxel a 2%. A Formulação II foi preparada por moagem da solução de paclitaxel a 2% com Plurionic F108™ (BASF) a 1% num frasco de cor âmbar de 0,5 oz, contendo 7,5 mL de meio de Zircônia dopado com Ítria 0,5 mm num Moinho de Rolos U.S. Stoneware durante 72 horas. A composição moída resultante possuía um tamanho médio de partícula eficaz de cerca de 220 nm, como medido por um Contador Coulter (Coulter Electronics Inc.).

Tanto o paclitaxel solubilizado (Formulação I) como o paclitaxel nanoparticulado (Formulação II) foram incubados com uma solução de NaOH 0,005 N (uma solução básica). No final do período de incubação, interrompeu-se a degradação pela base de paclitaxel, pela adição à solução de incubação de 1/100 do seu volume de HCl 1 N. A recuperação de paclitaxel foi em seguida medida para vários períodos de tempo por HPLC.

Como se mostra na Figura 1, o paclitaxel solubilizado degradou-se rapidamente quando exposto a condições básicas de AH, dado que apenas cerca de 20% do paclitaxel era recuperável após um período de incubação de 20 minutos. Em contraste, o paclitaxel nanoparticulado foi essencialmente estável sob condições básicas, dado que mais do que 90% do fármaco era recuperável após o mesmo período de incubação.

Exemplo 2

A finalidade deste exemplo foi a de determinar o efeito sobre a estabilidade da rapamicina, quando o fármaco é formulado numa composição nanoparticulada.

A rapamicina é útil como imunossupressor e como antibiótico anti-fúngico, e a sua utilização é descrita, por exemplo, nas Pat. U.S. N° 3929992, 3993749 e 4316885, e na Pat. Belga N° 877700. O composto, que é apenas ligeiramente solúvel em água, i. e., 20 microgramas por mL, hidrolisa-se rapidamente quando exposto à água. Devido à rapamicina ser altamente instável quando exposta a um meio aquoso, desenvolveram-se formulações injectáveis especiais para administração a doentes, tais como as descritas na Patente Europeia N° EP 041795. Tais formulações são muitas vezes indesejáveis, dado que frequentemente o agente solubilizante não aquoso apresenta efeitos secundários tóxicos.

Preparam-se duas formulações de rapamicina diferentes e expuseram-se em seguida a diferentes condições ambientais. Foi em seguida comparada a degradação de rapamicina para cada uma das formulações. As duas formulações foram preparadas como se segue:

- (1) Formulação I, uma mistura de rapamicina a 5% e Plurionic F68™ (BASF) a 2,5% num meio aquoso; e
- (2) Formulação II, uma mistura de rapamicina a 5% e Plurionic F108™ (BASF) a 1,25% num meio aquoso.

Moeu-se cada uma das duas formulações durante 72 horas num frasco de 0,5 onças contendo pérolas de Ítria de 0,4 mm

(Performance Ceramics Media) num Moinho U.S. Stoneware. Mediu-se o tamanho de partículas das composições nanoparticuladas resultantes através de um Contador Coulter (Modelo N° N4MD). Após moagem, as Formulações I e II possuíam tamanhos médios de partícula eficazes de 162 nm e 171 nm, respectivamente.

As amostras foram em seguida diluídas para cerca de 2% de rapamicina com Água Para Injectáveis (API), colocadas em frascos e em seguida ou armazenadas à temperatura ambiente ou congeladas após finalização da moagem e, em seguida, descongeladas e armazenadas à temperatura ambiente. Após dez dias de armazenagem à temperatura ambiente, as Formulações I e II tinham tamanhos médios de partícula eficazes de 194 nm e 199 nm, respectivamente.

A força da rapamicina nas formulações foi medida por HPLC, cujos resultados são apresentados a seguir na Tabela I.

TABELA I

Estabilidade de Rapamicina Nanoparticulada sob Diferentes Condições de Armazenagem

Amostra	Designação	Condições de Armazenagem	Tempo de Armazenagem	Força Final/Força Inicial	% SECO*
1	Formulação I	TA	2 dias	97%	< limite de detecção
2	Formulação II	TA	2 dias	99%	< limite de detecção
3	Formulação III	TA	2 dias	96%	< limite de detecção

Amostra	Designação	Condições de Armazenagem	Tempo de Armazenagem	Força Final/Força Inicial	% SECO*
7	Formulação I	Congelada /Descongelada	2 dias	95%	< limite de detecção
8	Formulação II	Congelada /Descongelada	2 dias	98%	< limite de detecção
9	Formulação III	Congelada /Descongelada	2 dias	97%	< limite de detecção
1	Formulação I	TA	3 sem.	95%	< limite de detecção
2	Formulação II	TA	3 sem.	98%	< limite de detecção
3	Formulação III	TA	3 sem.	98%	< limite de detecção

*SECO ou seco-ácido é o produto principal de degradação da rapamicina. O limite de detecção é de 0,2%.

Os resultados mostram que a formulação de rapamicina nanoparticulada apresentou uma degradação mínima da rapamicina após períodos de armazenagem prolongados ou quando exposta a condições ambientais de congelação e de descongelação.

Exemplo 3

A finalidade deste exemplo foi a de determinar o efeito da concentração de rapamicina sobre a estabilidade química de rapamicina numa formulação nanoparticulada após autoclavagem.

Preparam-se três formulações de rapamicina por moagem das três pastas seguintes, num frasco PyrexTM de 250 mL, contendo 125 mL de meio de Zircónia dopado com Ítria 0,4 mm durante 72 horas num moinho de rolos U.S. Stoneware:

- (a) rapamicina a 5%/Plurionic F68TM a 1,25%
- (b) rapamicina a 5%/Plurionic F68TM a 2,5%
- (c) rapamicina a 5%/Plurionic F68TM a 5%

Cada uma das três dispersões foi em seguida diluída com água, para preparar formulações com concentrações de rapamicina de 4,4%, 2,2%, 1,1% e 0,5%, como se segue:

- (1) Formulação 1: uma mistura de rapamicina a 4,4% e, antes da diluição, Plurionic F68TM a 1,25% num meio aquoso;
- (2) Formulação 2: uma mistura de rapamicina a 4,4% e, antes da diluição, Plurionic F68TM a 2,5% num meio aquoso;
- (3) Formulação 3: uma mistura de rapamicina a 4,4% e, antes da diluição, Plurionic F68TM a 5% num meio aquoso;
- (4) Formulação 4: uma mistura de rapamicina a 2,2% e, antes da diluição, Plurionic F68TM a 1,25% num meio aquoso;
- (5) Formulação 5: uma mistura de rapamicina a 2,2% e, antes da diluição, Plurionic F68TM a 2,5% num meio aquoso;

- (6) Formulação 6: uma mistura de rapamicina a 2,2% e, antes da diluição, Plurionic F68™ a 5% num meio aquoso;
- (7) Formulação 7: uma mistura de rapamicina a 1,1% e, antes da diluição, Plurionic F68™ a 1,25% num meio aquoso;
- (8) Formulação 8: uma mistura de rapamicina a 1,1% e, antes da diluição, Plurionic F68™ a 2,5% num meio aquoso;
- (9) Formulação 9: uma mistura de rapamicina a 1,1% e, antes da diluição, Plurionic F68™ a 5% num meio aquoso;
- (10) Formulação 10: uma mistura de rapamicina a 0,55% e, antes da diluição, Plurionic F68™ a 1,25% num meio aquoso;
- (11) Formulação 11: uma mistura de rapamicina a 0,55% e, antes da diluição, Plurionic F68™ a 2,5% num meio aquoso; e
- (12) Formulação 12: uma mistura de rapamicina a 0,55% e, antes da diluição, Plurionic F68™ a 5% num meio aquoso;

Todas as doze formulações nanoparticuladas foram autoclavadas durante 25 minutos a 121 °C. As formulações foram em seguida armazenadas a 4 °C durante 61 dias, seguido de ensaio

para degradação da rapamicina. Não foi detectada degradação, como medida através da percentagem do produto de degradação SECO, para qualquer das formulações.

Exemplo 4

A finalidade deste exemplo foi a de determinar a estabilidade química de uma formulação de rapamicina nanoparticulada após um período de armazenagem prolongado à temperatura ambiente.

Moeu-se uma mistura de rapamicina a 20% e de Plurionic F68™ a 10% num meio aquoso com meio YTZ 0,4 mm (Performance Ceramic Co.), num moinho U.S. Stoneware durante 72 horas, à temperatura ambiente. A composição nanoparticulada final possuía um tamanho médio de partícula entre 180 e 230 nm, como medido pelo contador Coulter.

Após duas semanas de armazenagem à temperatura ambiente, não se detectou o produto de degradação SECO em qualquer das preparações nanoparticuladas, indicando que era mínima ou não havia degradação da rapamicina nas amostras da formulação nanoparticulada armazenadas.

Exemplo 5

A finalidade deste exemplo foi a de determinar o efeito da armazenagem de longa duração na estabilidade química de rapamicina numa composição nanoparticulada.

Preparam-se três formulações diferentes de rapamicina nanoparticuladas como se segue: Formulação 1, com uma concentração de rapamicina de 182,8 mg/mL; Formulação 2, com uma concentração de rapamicina de 191,4 mg/mL; e Formulação 3, com uma concentração de rapamicina de 192,7 mg/mL.

Preparam-se as formulações por moagem das seguintes três pastas, num frasco de cor âmbar de 0,5 oz, contendo 7,5 mL de meio de Zircónia dopado com Ítria 0,8 mm durante 72 horas, num moinho de rolos U.S. Stoneware:

- (1) rapamicina a 20%/Plurionic F68 a 10%
- (2) rapamicina a 20%/Plurionic F68 a 5%
- (3) rapamicina a 20%/Plurionic F68 a 2,5%

Após armazenagem durante dois meses e meio, não se detectou o produto de degradação SECO em qualquer das amostras. Estes resultados mostram que podem ser utilizadas várias intensidades de dosagem de rapamicina em formulações nanoparticuladas, sem qualquer impacto na estabilidade química acrescida do fármaco.

Lisboa, 8 de Maio de 2008

REIVINDICAÇÕES

1. Método para estabilizar quimicamente e, desse modo, reduzir a velocidade de degradação de um fármaco pouco solúvel seleccionado de paclitaxel e de um fármaco contendo um anel de lactona macrocíclico, compreendendo o método a formulação de partículas de fármaco numa composição de fármaco nanoparticulada estável, por um método que compreende a combinação das partículas de fármaco com, pelo menos, um estabilizador de superfície não reticulado, em que após a referida combinação, pelo menos, um estabilizador de superfície não reticulado é adsorvido à superfície das partículas de fármaco e as referidas partículas de fármaco possuem um tamanho médio de partícula eficaz inferior a cerca de 2 micrones.
2. Método de acordo com a Reivindicação 1, em que o fármaco está presente numa quantidade seleccionada do grupo consistindo de cerca de 99,5% a cerca de 0,001%, de cerca de 95% a cerca de 0,1% e de cerca de 90% a cerca de 0,5% em peso, com base no peso total combinado de, pelo menos, um fármaco e de, pelo menos, um estabilizador de superfície, não incluindo outros excipientes.
3. Método de acordo com as Reivindicações 1 ou 2, em que, pelo menos, um estabilizador de superfície está presente numa quantidade seleccionada do grupo consistindo de cerca de 0,001% a cerca de 99,5%, de cerca de 0,1% a cerca de 95% e de cerca de 0,5% a cerca de 90% em peso, com base no peso total combinado de, pelo menos, um fármaco e de, pelo menos, um estabilizador de superfície, não incluindo outros excipientes.

4. Método de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1 a 3, em que a composição de fármaco nanoparticulada possui um tamanho médio de partícula eficaz inferior a cerca de 1 micron, inferior a cerca de 600 nm, inferior a cerca de 500 nm, inferior a cerca de 400 nm, inferior a cerca de 300 nm, inferior a cerca de 200 nm, inferior a cerca de 100 nm ou inferior a cerca de 50 nm.
5. Método de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1 a 4, em que a composição de fármaco nanoparticulada é uma formulação injectável.
6. Método de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1 a 5, em que o fármaco é rapamicina.
7. Método de acordo com a Reivindicação 6, em que a referida rapamicina é estável após exposição a condições de hidrólise.
8. Método de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1 a 5, em que o fármaco é paclitaxel.
9. Método de acordo com a Reivindicação 8, em que o referido paclitaxel é estável após exposição a condições de pH básicas.
10. Método de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1 a 9, em que as partículas de fármaco estão numa fase cristalina ou numa fase amorfa.

Lisboa, 8 de Maio de 2008

Fig. 1

Degradação de Paclitaxel Nanoparticulado e Paclitaxel
a NaOH 0,005 N

