



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112014021391-7 B1



(22) Data do Depósito: 25/02/2013

(45) Data de Concessão: 26/07/2022

(54) Título: EMULSÃO DE ÓLEO-EM-ÁGUA CONTENDO HORMÔNIO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA

(51) Int.Cl.: A61K 9/107; A61K 31/56; A61K 47/14; A61K 9/00; A61P 25/00.

(30) Prioridade Unionista: 29/02/2012 EP 12157546.8.

(73) Titular(es): B. BRAUN MELSUNGEN AG.

(72) Inventor(es): ILONA KASPAR; VOLKER KRÜGER; DORIS RÖTHLEIN; MARTIN WOLF; JÜRGEN SCHMITT.

(86) Pedido PCT: PCT EP2013053686 de 25/02/2013

(87) Publicação PCT: WO 2013/127728 de 06/09/2013

(85) Data do Início da Fase Nacional: 28/08/2014

(57) Resumo: EMULSÃO DE ÓLEO EM ÁGUA CONTENDO HORMÔNIO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA. A presente invenção refere-se a urna emulsão de óleo em água contendo hormônio para administração parenteral que compreende a progestogênio e/ou estrogênio e b) triglicerídeos de óleo de óleo de peixe, sendo que o triglicerídeo de óleo de peixe consiste em glicerol que é esterificado com ácidos graxos, sendo que os referidos ácidos graxos incluem o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) em uma quantidade de pelo menos 45% em peso dos referidos ácidos graxos.

**EMULSÃO DE ÓLEO-EM-ÁGUA CONTENDO HORMÔNIO E COMPOSIÇÃO
FARMACÊUTICA**

[0001] A invenção refere-se a uma emulsão de óleo-em-água contendo hormônio para administração parental que compreende progestogênio e/ou estrogênio; e triglicerídeos de óleo de peixe, bem como uma composição farmacêutica compreendendo ou consistindo na referida emulsão de óleo-em-água. A composição farmacêutica é especialmente para o uso no tratamento ou profilaxia de danos neurológicos após acidentes vasculares cerebrais e/ou trauma e/ou para uso no tratamento ou profilaxia de danos neurológicos após concussão e/ou lesão traumática do sistema nervoso central.

JUSTIFICATIVA

[0002] A Lesão Cerebral Traumática (TBI) é um insulto não-degenerativo e não-congênito ao cérebro de uma força mecânica externa, possivelmente levando a deficiências permanentes ou temporárias de funções cognitivas, físicas e psicossociais com um estado de consciência associado diminuído ou alterado. Alguns pacientes têm uma necessidade em longo prazo ou permanente de ajuda para realizar atividades da vida diária, como resultado da TBI.

[0003] Apesar da enormidade do problema colocado pela TBI, não existem atualmente medicamentos aprovados e provados ser eficazes na melhoria da mortalidade ou na melhoria dos resultados seguintes da TBI. No entanto, dois ensaios clínicos recentes demonstraram o sucesso do tratamento da TBI com o hormônio esteroide progesterona (Xiao et al, 2008, Crit Care, 12:: R61;

Wright et al Ann Emerg Med 2007, 49: 391-402.). Ambos os estudos demonstraram que a progesterona é segura e bem tolerada em pacientes com TBI, e que a administração de progesterona para pacientes com TBI leva à diminuição da mortalidade. Além disso, os pedidos de patente WO2006/102644, WO2006102596, WO2008/039898, US2011/0262494 e US2011/0262495 delineiam métodos para o tratamento da TBI pela administração parenteral de progestogênio.

[0004] Além disso, Alkayed et al. em Stroke 31, 161 (2003) descrevem a influência positiva de estrogênios e progesterona administrados em via subcutânea sobre a condição dos pacientes com derrame.

[0005] Um derrame, também conhecido como Acidente Vascular Cerebral (AVC) é a perda rápida de função(s) do cérebro devido à perturbação no suprimento de sangue para o cérebro. Isto pode ser devido à isquemia (falta de fluxo de sangue) causada pelo bloqueio (trombose, embolia arterial), ou uma hemorragia (vazamento de sangue). Como resultado, a área afetada do cérebro não pode funcionar, o que pode resultar em uma incapacidade para mover um ou mais membros de um lado do corpo, incapacidade para compreender ou formular fala, ou uma incapacidade para ver um lado do campo visual.

[0006] Um acidente vascular cerebral é uma emergência médica e pode causar danos neurológicos permanentes, complicações e morte. É a principal causa de incapacidade em adultos nos Estados Unidos e na Europa e a segunda maior causa de morte no mundo. Fatores de risco para AVC incluem idade avançada, hipertensão arterial (pressão alta), acidente vascular cerebral anterior ou

ataque isquêmico transitório (TIA), diabetes, colesterol alto, tabagismo e fibrilação atrial. A pressão arterial elevada é o fator de risco modificável mais importante do derrame.

[0007] A via mais eficaz de administração de progestogênios tais como a progesterona e/ou de estrogênio tal como estradiol é a via parental, tal como a administração intravenosa. No entanto, a natureza hidrofóbica da progesterona e/ou de moléculas de estradiol e, portanto, a sua fraca solubilidade em água, apresenta limitações na formulação. As soluções aquosas não oferecem formulações capazes de entregar doses terapêuticas eficazes de progesterona aos pacientes. No entanto, a progesterona e/ou o estradiol são suficientemente lipofílicos para permitir que as concentrações terapeuticamente eficazes sejam preparadas em solventes hidrofóbicos, tais como solventes com base em triglicerídeos.

[0008] A administração de fármacos hidrofóbicos através de infusão intravenosa de emulsões de óleo-em-água é conhecida na técnica. Em Wright et al., Ann. Emerg. Med. 2007, 49: 391-402 um sistema de 2 componentes é utilizado, em que a progesterona é primeiramente dissolvida em uma solução alcoólica (primeiro componente), e esta solução alcoólica de progesterona é subsequentemente injetada na emulsão de lipídios comercialmente disponível Intralipid® 20% (Fresenius Kabi, Suécia) (segundo componente), e manualmente misturada (tal como por agitação) pouco antes da administração intravenosa da mistura de solução alcoólica/emulsão. Existem várias desvantagens de usar este método de preparação:

[0009] Em primeiro lugar, a administração de soluções alcoólicas para pacientes com TBI não é desejável. Em segundo lugar, enquanto que a presença de álcool auxiliar a solubilização da progesterona e/ou estradiol, uma mistura manual de baixo cisalhamento não permite que toda a progesterona/estradiol entre na fase de óleo. Por conseguinte, essas emulsões são capazes de solubilizar apenas uma quantidade limitada de progesterona ou de estradiol, e grandes quantidades de lipídios devem ser administradas para atingir os níveis desejados de progesterona e/ou de estrogênio no soro. No entanto, a administração de grandes volumes de emulsão, e/ou grandes quantidades de lipídios para o paciente pode ter consequências graves, tais como a indução da hiperlipidemia ou edema. O paciente é, como um resultado, exposto a uma carga lipídica /ou de líquido indesejável e é colocado em risco de reações adversas.

[0010] Além disso, progestogênio e/ou estrogênio não dissolvido é suscetível de cristalização e, subsequentemente, oxidação na fase aquosa, fazendo que, assim, não só elevados níveis de partículas se acumulem na composição, mas também níveis elevados de produtos de degradação do ingrediente ativo. De fato, foi demonstrado que, quando uma solução alcoólica de progesterona é injetada em uma composição de emulsão lipídica comercial (tal como Intralipid® 20%), uma fração do hormônio se encontra em forma cristalina, em vez de tornar-se solubilizado na emulsão. Esta progesterona não solubilizada foi relatada como sendo adsorvida na superfície das bolsas de infusão e de dutos de alimentação. A observação de que nem toda a progesterona entra na fase de óleo destas emulsões de 2 componentes conduz a uma

incerteza quanto à concentração de progesterona alcançada na composição final, e a biodisponibilidade do hormônio.

[0011] Finalmente, devido a problemas de estabilidade, a mistura de progesterona-lipídio de sistemas de 2 componentes deve ser preparada apenas algumas horas antes da administração (isto é, o primeiro componente é adicionado ao segundo componente e misturados dentro de horas de utilização), já que a mistura resultante não pode ser armazenada à temperatura ambiente. É tanto demorado como inconveniente para os profissionais médicos preparam tais misturas por encomenda e, particularmente, insatisfatório no contexto da terapia da TBI, onde o tratamento imediato pode ser importante para o estado do paciente.

[0012] Os métodos alternativos para preparar emulsões contendo hormônios descrevem a incorporação do hormônio diretamente no óleo durante a fabricação da emulsão lipídica (WO 2004/110402).

[0013] O documento CN 101152186 descreve a utilização de surfactantes Solutol S15 ou poloxâmero 188 na preparação de formulações injetáveis de progesterona. Enquanto que o uso destes surfactantes pode atingir um elevado grau de solubilidade de progesterona, a administração intravenosa de altas concentrações destes surfactantes está associada com efeitos colaterais indesejáveis incluindo um aumento moderado na liberação de histamina, urticária e reações anafiláticas (prurido, eritema).

[0014] Um método para aumentar a solubilidade de progesterona e/ou estradiol em emulsões lipídicas conhecido na técnica é a

utilização de solventes orgânicos. A progesterona é altamente solúvel em ácido benzoico ou seus derivados. Por exemplo, o documento JP 60-258110 descreve o uso de benzoato de benzila para aumentar a solubilidade de progesterona em uma emulsão lipídica. No entanto, uma vez que os álcoois benzílicos e benzoato de benzila são geralmente tóxicos e são conhecidos por causar alergias, a sua inclusão em composições para administração parental é considerada um grave perigo.

[0015] Independentemente dos problemas associados com a solubilidade e a estabilidade das emulsões permanece o problema de melhorar a efetividade dos hormônios no tratamento ou profilaxia de danos neurológicos.

[0016] Foi surpreendentemente descoberto que os problemas associados com o estado da técnica podem ser resolvidos por uma emulsão de óleo-em-água que contém hormônio para administração parental que compreende progestogênio e/ou estrogênio; e um ácido graxo ômega-3 de óleo de peixe enriquecido e/ou fosfolipídios que compreendem uma ou mais espécies de ácido graxo ômega-3.

DEFINIÇÕES

[0017] O termo "óleo" como aqui utilizado é prontamente intercambiável com "lipídio" e "gordura", e refere-se a compostos orgânicos lipofílicos de elevado ponto de ebulição que são líquidos à temperatura do corpo (por exemplo, cerca de 37° C), e são farmacologicamente aceitáveis em formulações injetáveis. Os óleos da presente invenção compreendem glicerídeos, glicerídeos parciais, resíduos de ácidos graxos e

não-glicerídeos, bem como as suas misturas. Os fosfolipídios, a menos que indicado de outra forma, não estão abrangidos pelo termo "óleo" como é aqui usado.

[0018] O termo "emulsão de óleo-em-água", tal como é aqui utilizado, refere-se a um sistema de dispersão coloidal no qual o óleo líquido é disperso em gotículas pequenas (a fase discreta) em um meio aquoso (fase contínua).

[0019] O termo "fosfolipídio", tal como aqui utilizado refere-se um éster de glicerol com um ou dois ácidos graxos e um grupo fosfato. Além de fosfolipídios derivados de glicerol, o termo "fosfolipídio" como aqui utilizado engloba também esfingomielina.

[0020] O termo "meio aquoso" como aqui utilizado refere-se a um líquido contendo água.

[0021] Tal como aqui utilizada, a frase "quantidade terapeuticamente eficaz" significa a dosagem da droga que proporciona a resposta farmacológica específica para a qual o medicamento é administrado em um sujeito com necessidade de tal tratamento. Salienta-se que uma quantidade terapeuticamente eficaz ou nível terapêutico de uma droga não será sempre eficaz no tratamento de condições/doenças aqui descritas, embora tal dose seja considerada uma quantidade terapeuticamente eficaz por aqueles versados na técnica. Por conveniência apenas, as dosagens exemplificativas, quantidades de entrega da droga, as quantidades terapeuticamente eficazes e níveis terapêuticos são fornecidos a seguir com referência a seres humanos adultos. Os versados na técnica podem ajustar tais valores em conformidade

com as práticas convencionais, conforme necessário para tratar um sujeito específico e/ou condição/doença.

[0022] A menos que indicado de outro modo, sempre que for feita aqui referência a "percentagem em peso por volume" ou "%p/v" estes termos descrevem a massa do componente em g por 100 mL da composição na qual está contido. A menos que indicado de outro modo, sempre que for aqui feita referência a "percentagem em peso por peso" ou "%p/p" estes termos denotam a massa de um componente como uma percentagem da massa da composição em que o componente está contido.

[0023] Sempre que "PCS" ou "Espectroscopia de Correlação de Fótons" (*Photon Correlation Spectroscopy*) for aqui referido, o que se quer dizer é o PCS como medido de acordo com o método descrito em USP, Capítulo <729>, Método I, utilizando o Zetasizer 1000 HSA (Malvern Instruments).

[0024] Sempre que $d(0,5)$ (diâmetro médio com base em volume) for aqui referido, o que se quer dizer é $d(0,5)$ medido de acordo com o método descrito em USP <429> (Medição de difração de luz de tamanho de partícula), utilizando o Mastersizer 2000 com a unidade de dispersão Hydro S (Malvern Instruments).

[0025] Sempre que "potencial zeta" for aqui referido, o que se quer dizer é o potencial eletrocinético em sistemas coloidais como determinado experimentalmente usando Zetasizer 1000 HAS (Malvern Instruments).

[0026] Sempre que o termo "livre de sólido cristalino" for aqui utilizado, deve significar que as emulsões da presente invenção satisfazem os padrões de tamanho de partículas e

contagem em líquidos de injeção (USP 788, Método 2 - Teste de contagem de partículas microscópicas).

DESCRÍÇÃO DETALHADA

[0027] Uma primeira concretização da presente invenção é uma emulsão de óleo-em-água contendo hormônio para administração parental que compreende

a) progestogênio e/ou estrogênio e

b) triglicerídeos de óleo de peixe, sendo que o triglycerídeo de óleo de peixe consiste em glicerol, que é esterificado com ácidos graxos, sendo que os referidos ácidos graxos incluem o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) em uma quantidade de pelo menos 45% em peso do referido ácido graxo.

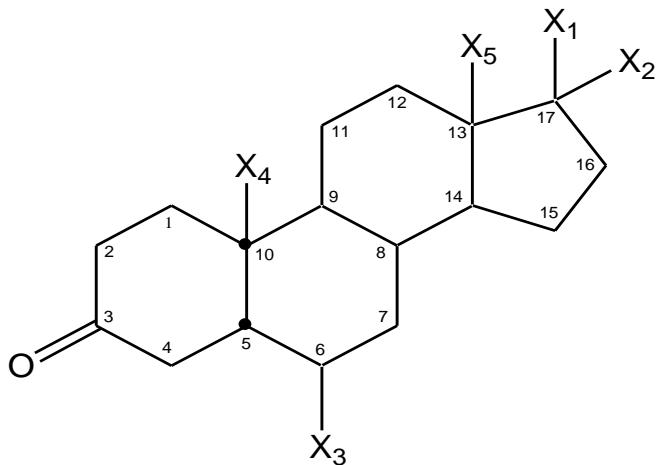
[0028] A emulsão de óleo-em-água da presente invenção compreende um uma fase de óleo e uma aquosa.

[0029] A emulsão de óleo-em-água da presente invenção compreende um progestogênio e/ou estrogênio como o ingrediente farmacêutico ativo (API).

[0030] Tal como aqui utilizado, "progestogênio" inclui tanto a progesterona natural e progestogênios sintéticos. Em geral, os progestogênios têm a Fórmula geral I, em que X₁ e X₂ são independentemente selecionados a partir de -COCH₃, -OCOC₅H₁₁, -OH, etinila, -OCOCH₃, -H, -CH₂CN; sendo que X₃ é selecionado a partir de -H, -CH₃, ou -Cl; em que X₄ é selecionado a partir de -H, -OH, ou -CH₃, e sendo que X₅ é selecionado a partir de CH₃ ou CH₂CH₃. O progestogênio pode conter estruturas em anel com uma

ou mais ligações duplas, por exemplo, entre os carbonos 3 e 4, 4 e 5, 5 e 6, 6 e 7, 5 e 10, 10 e 9, e/ou 15 e 16.

Fórmula I:



[0031] Tais progestogênios incluem, por exemplo, derivados da progesterona, tais como 5- α -dihidroprogesterona, 6-desidroretroprogesterona (dihydroprogesterona), caproato de hidroxiprogesterona, levonorgestrel, noretindrona, acetato de noretindrona; noretinodrel, norgestrel, medroxiprogesterona, acetato de clormadinona, e megestrol. "Progestogenênia" também inclui, mas não está limitado a modificações que produzem ésteres 17 α -OH de progesterona, bem como modificações, que introduzem substituintes de 6- α -metil, 6-metil, 6-eno, e 6-cloro em progesterona e/ou 19-nor-progesterona. Além disso, os exemplos não limitativos de progestogênios sintéticos incluem noretindrona (Micronor®), norgestrel (Ovrette®), levonorgestrel (Norplant®; com etinil-estradiol; Alesse®, Nordette®), gestodeno, acetato de medroxiprogesterona (Provera®), promegestona, acetato de nomegestrol, linestrenol e dienogest.

[0032] Em uma concretização, o progestogênio é selecionado a partir do grupo que consiste em progesterona, noretinodrel,

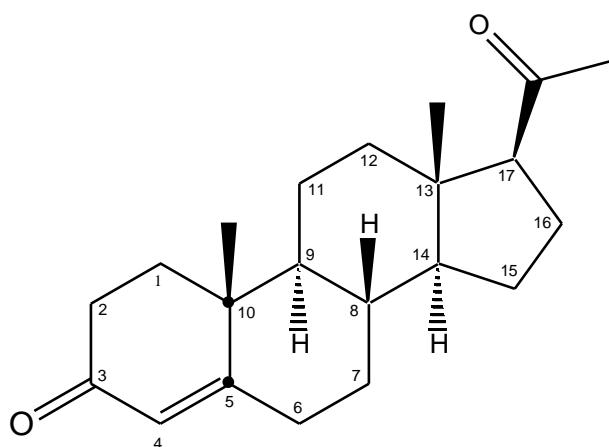
acetato de noretidrona, medroxiprogesterona, medroxiprogesterona 17-acetato, levonorgestrel, didrogestrona, caproato de hidroxiprogesterona, noretidrona, gestodeno, acetato de nomegestrol, promegestona, dienogest, clormadinona, megestrol, acetato de megestrol, e/ou suas misturas.

[0033] Em concretizações específicas, o progestogênio é selecionado do grupo consistindo em 5- α -dihidropregesterona, medroxiprogesterona, didrogestrona, e progesterona e/ou suas misturas.

[0034] Em uma concretização adicional, o progestogênio é selecionado do grupo que consiste em pregnolonona, progesterona, medroxiprogesterona e os seus derivados farmaceuticamente aceitáveis.

[0035] Em concretizações específicas, o progestogênio é progesterona. O termo "progesterona" tal como aqui utilizado refere-se a um membro da família da progesterona possuindo a estrutura de Fórmula II abaixo:

Fórmula II:



[0036] A progesterona também é conhecida como D4-pregneno-3,20-diona; delta-4-pregneno-3,20-diona; ou pregn-4-eno-3,20-diona. Em concretizações muito específicas, a progesterona é micronizada. Proquina (México) é um fornecedor de progesterona micronizada.

[0037] O progestogênio (por exemplo, qualquer progestogênio, incluindo progesterona), que é adequado para utilização de acordo com a presente invenção pode estar na forma de um sal farmaceuticamente aceitável.

[0038] A emulsão de óleo-em-água da presente invenção pode compreender uma quantidade de progestogênio de pelo menos 0,1 g/l, de preferência, pelo menos, 0,15 g/l, mais preferivelmente na faixa de 0,15 g/l para 12,0 g/l, ainda mais preferivelmente 0,8 g/l a 4,0 g/l, especialmente de 1,0 g/l a 2,5 g/l.

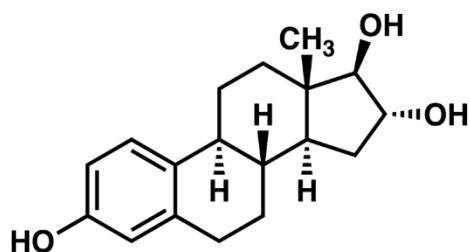
[0039] Em uma concretização preferida, a emulsão de óleo-em-água compreende progesterona em uma quantidade que varia entre 0,15 g/l a 12 g/l.

[0040] A emulsão de óleo-em-água da presente invenção pode compreender uma quantidade de progestogênio (por exemplo, progesterona) de pelo menos 0,3 g/L, pelo menos 0,5 g/L, pelo menos 1 g/l. De acordo com qualquer uma dessas concretizações, a emulsão pode compreender uma quantidade de progestogênio (por exemplo, progesterona) inferior ou igual a 3,0 g/l, inferior ou igual a 2,5 g/l, ou menos do que ou igual a 2,0 g/l. Em uma concretização particular, a emulsão de óleo-em-água da presente invenção compreende cerca de 1,0 g/l a 2,0 g/l de progesterona, especificamente cerca de 1,5 g/l de progesterona.

[0041] De acordo com uma concretização alternativa da invenção, a emulsão de óleo em água compreende um ou mais estrogênios.

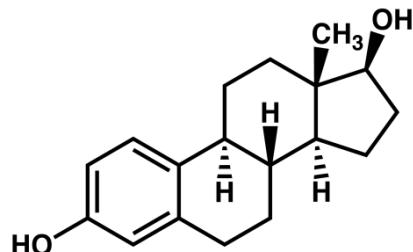
[0042] Em uma concretização preferida, a emulsão compreende o estriol ($1,3,5(10)$ -estratrieno- $3,16\alpha,17\beta$ -triol) que se reflete na fórmula III abaixo:

Fórmula III:



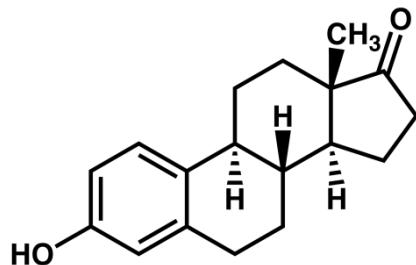
[0043] Em uma concretização adicional, a emulsão compreende estradiol ($1,3,5(10)$ -estratrieno- $3,17\beta$ -diol), que se reflete na Fórmula IV abaixo:

Fórmula IV:



[0044] Em uma concretização adicional, a emulsão compreende estrona que se reflete na Fórmula V abaixo:

Fórmula V:



[0045] De acordo com uma concretização preferida da invenção, a emulsão de óleo-em-água compreende estrogênios selecionados a partir do grupo que consiste em estradiol, estrona, estriol e derivados, bem como as suas misturas.

[0046] O estradiol é especificamente preferido.

[0047] Os estrogênios estão preferencialmente presente na emulsão de óleo-em-água em uma quantidade que varia de 0,015 g/l a 5 g/l, mais preferencialmente 0,015 g/l a 1,5 g/l e mais preferencialmente de 0,05 g/L para 0,3 g/l (gramas por litro), com base na emulsão.

[0048] Em uma concretização preferida, a emulsão compreende estradiol em uma quantidade na faixa de 0,015 g/l a 1,5 g/l, de preferência 0,05 g/l a 1,0 g/l, mais preferivelmente 0,08 g/l a 0,5 g/l e especialmente de 0,1 g/l a 0,3 g/l.

[0049] De acordo com uma concretização adicional da presente invenção, a emulsão de óleo-em-água compreende uma combinação de estrogênio e progestogênio. A proporção em peso de progestogênio para estrogênio na emulsão pode ser de 2:1 a 500:1, de preferência 2:1 a 200:1, mais preferivelmente de 5:1 a 50:1 e mais preferivelmente de 10:1 a 20:1.

[0050] Preferencialmente, a emulsão de óleo-em-água compreende estradiol e/ou progesterona.

[0051] Uma concretização da invenção refere-se à combinação de estrona com pregnenolona e/ou progesterona, uma outra à combinação de estriol com pregnenolona e/ou progesterona. Uma concretização alternativa particularmente preferida refere-se à combinação de estradiol e/ou pregnenolona e/ou progesterona, especialmente com progesterona. Em ambas as alternativas, medroxiprogesterona pode estar adicionalmente contida, ou medroxiprogesterona pode ser substituída por pregnenolona e/ou progesterona. Assim, mais do que dois hormônios também podem ser combinadas de acordo com a invenção.

[0052] Para melhor dosagem das emulsões de óleo-em-água, as emulsões mãe podem ser diluídas, se necessário, com uma quantidade adequada de água, de preferência com um máximo de quatro vezes a quantidade de água.

[0053] A fase de óleo da emulsão de óleo-em-água compreende triglicerídeos de óleo de peixe, sendo que o triglicerídeo de óleo de peixe consiste em glicerol que é esterificada com ácidos graxos, sendo que os referidos ácidos graxos incluem o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) em uma quantidade de pelo menos 45% em peso dos referidos ácidos graxos e de preferência a quantidade total de ácidos graxos ômega-3 é de pelo menos 50% em peso (%p), mais preferencialmente pelo menos 55% em peso, mais preferivelmente pelo menos 60% em peso e mais preferencialmente pelo menos 65% em peso dos referidos ácidos graxos.

[0054] Na Farmacopeia Europeia (EP), há duas monografias (isto é, EP 1352, intitulada "Triglicerídeos de Ácido Ômega-3", e, EP 1912, intitulada "Óleo de peixe, rico em ácidos ômega-3") que dizem respeito a óleo de peixe que é aceitável para uso em emulsões parenterais (PE 1352, PE 1912, 2008). A monografia EP 1352 difere substancialmente da EP 1912 em que a composição e os requisitos para os bioativos n3-FAs na EP 1352 são muito mais elevados do que em EP 1912 (EP 1352: EPA + DHA \geq 45%; total de n3-FAs \geq 60% vs. EP 1912: EPA: \geq 13%; DHA \geq 9%; total de n3-FAs \geq 28%). Os níveis de n3-FAs em EP 1912 são consistentes com aqueles encontrados na natureza. Em comparação, na EP 1352, as concentrações n3-FA são substancialmente mais elevadas e podem ser obtidas por um processo de enriquecimento tal como destilação molecular, pelo que certos ácidos graxos indesejáveis que estão presentes, por exemplo, ácido mirístico, ácido palmítico e ácido esteárico, são removidos. Ao fazê-lo, as concentrações de todos os ácidos graxos presentes, e particularmente os ácidos graxos ômega-3, são proporcionalmente elevadas. Em uma concretização exemplar, os triglicerídeos de óleo de peixe incluem ácidos graxos ômega-3 em uma quantidade de pelo menos 60%, preferencialmente pelo menos 65% em peso, com base no peso total dos ácidos graxos dos triglicerídeos de óleo de peixe. Os triglicerídeos de óleo de peixe incluem uma quantidade total de ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) de, pelo menos, 45%, de preferência pelo menos 50% em peso, com base no peso total dos ácidos graxos dos triglicerídeos de óleo de peixe. Por exemplo, os ácidos graxos e ácidos graxos ômega-3 (tais como, por exemplo, EPA e DHA) discutidos aqui referem-se às partes constituintes de tais ácidos em um triglicerídeo de

óleo de peixe, de acordo com a EP 1352. Por exemplo, os ácidos graxos ômega-3 e ácidos graxos (tais como, por exemplo, EPA e DHA) discutidos estão na sua forma esterificada quando presentes nos triglicerídeos de óleo de peixe.

[0055] De acordo com a invenção, os triglicerídeos de óleo de peixe compreendem os ácidos graxos ômega-3 compostos de ácido eicosapentaenoico em uma quantidade de 30% ou mais, ácido docosahexaenoico em uma quantidade de 30% ou menos, e ácido docosapentaenoico em uma quantidade de cerca de 40% ou menos, com base no peso do conteúdo total de ácido graxo ômega-3.

[0056] Os triglicerídeos de óleo de peixe podem compreender pelo menos um ácido graxo ômega-6, por exemplo, uma pluralidade de ácidos graxos ômega-6. O pelo menos um ácido graxo ômega-6 pode incluir, por exemplo, ácido araquidônico ou AA (20:4n6), ácido linoleico ou LA (18:2n6), ácido gama linolênico ou ALA (18:3n6), ou uma combinação dos mesmos. Por exemplo, o conteúdo total do pelo menos ácido graxo ômega-6 pode ser de cerca de 0,1% a cerca de 1,0%, ou desde cerca de 0,2% a cerca de 0,9%, ou desde cerca de 0,3% a cerca de 0,8%, ou desde cerca 0,4% a cerca de 0,7%, ou de cerca de 0,5% a cerca de 0,6%, com base no peso dos ácidos graxos que estão esterificados com glicerol para formar o triglicerídeo de óleo de peixe.

[0057] A determinação do teor de ácidos graxos ômega-3 (n3-FAs) pode ser feita como descrito no "Óleo de peixe, rico em ácidos ômega-3" da Farmacopeia Europeia. O teor de n3-FAs pode ser a partir de um único n3-FA, ou qualquer combinação dos mesmos. Em uma concretização ilustrativa, a composição pode conter EPA, DHA, DPA ou uma combinação dos mesmos, por exemplo,

cada um de EPA, DHA e DPA. A dosagem individual, por exemplo, dosagem diária total, de ácido eicosapentaenoico (EPA), pode variar de 0 a 300 mg/kg da formulação, por exemplo, de 50 a 250 mg/kg, por exemplo, de 100 a 200 mg/kg, com base no peso corporal. A dosagem individual, por exemplo, dosagem diária total, de ácido docosahexaenoico (DHA), pode variar de 0 a 300 mg/kg da formulação, por exemplo, de 50 a 250 mg/kg, por exemplo, de 100 a 200 mg/kg, com base no peso corporal. A dosagem individual, por exemplo, dosagem diária total, de ácido docosapentaenoico (DPA), pode variar de 0 a 300 mg/kg da formulação, por exemplo, de 50 a 250 mg/kg, por exemplo, de 100 a 200 mg/kg, com base no peso corporal. Por exemplo, EPA, DHA e/ou DPA podem estar presentes em quantidades que são eficazes para proporcionar uma proteção neuro para os órgãos vitais.

[0058] Os triglicerídeos de óleo de peixe podem estar presentes em uma quantidade de pelo menos 25% em peso, de preferência pelo menos 35% em peso, ainda mais preferencialmente, pelo menos 50% em peso, especialmente pelo menos 75% em peso e especialmente pelo menos 85% em peso, cada um com base no peso total do componente de óleo.

[0059] De acordo com uma concretização preferida, os triglicerídeos de óleo de peixe estão presentes em uma quantidade entre 55 e 95% em peso, mais preferencialmente 60 e 92% em peso, especialmente 70 a 90% em peso, com base no peso total do componente de óleo.

[0060] De acordo com uma concretização preferida da invenção, a emulsão de óleo-em-água compreende, adicionalmente, triglicerídeos de cadeia média (MCT).

[0061] Um segundo componente exemplar do componente de óleo da emulsão pode incluir pelo menos um triglicerídeo de cadeia média (MCT), por exemplo, uma pluralidade de MCTs. Por exemplo, o pelo menos um MCT pode estar presente desde cerca de 10% a cerca de 69%, ou de cerca de 10% a cerca de 40%, ou de cerca de 10% a cerca de 30%, ou de cerca de 10% a cerca de 20%, ou desde cerca de 10% a cerca de 15%, ou de cerca de 20% a cerca de 60%, ou de cerca de 30% a cerca de 50%, ou de cerca de 40% a cerca de 45%, com base no peso total do componente de óleo da emulsão. Por exemplo, através do emprego de faixas exemplares de MCT, a quantidade de ácidos graxos ômega-3 esterificados entregues a um corpo humano pode ser aumentada. Por exemplo, através do emprego de faixas de MCT exemplares, a quantidade de ácidos ômega-3 esterificados entregues a um corpo humano pode ser aumentada com a utilização de uma quantidade relativamente menor de MCT, enquanto ainda alcança depuração metabólica benéfica e características de estabilidade físico-química da emulsão.

[0062] Por exemplo, o MCT pode incluir um ácido graxo saturado de cadeia média, por exemplo, uma pluralidade de ácidos graxos saturados de cadeia média. Em uma concretização exemplar, o MCT é um triglicerídeo de um ácido graxo com 6 a 12 átomos de carbono. O MCT pode ser derivado de uma planta, tal como um vegetal, por exemplo, uma pluralidade das plantas. O MCT pode conter ácido caprílico (por exemplo, em uma quantidade de cerca de 50% a cerca de 80% em peso de MCT), um FA saturado de 8 carbonos (8:0). O MCT pode conter ácido cáprico (por exemplo, em uma quantidade de cerca de 20% a cerca de 50% em peso de MCT), um AG saturado de 10 carbonos (10:0). Por exemplo, os triglicerídeos de cadeia média podem conter triglicerídeos de ácido caprílico e ácido

cáprico, em uma quantidade de pelo menos 90% em peso dos triglicerídeos de cadeia média. A descrição do MCT para uso nesta divulgação pode, por exemplo, cumprir os requisitos da monografia EP 0868, intitulada "Triglycerídeos, Cadeia média" (Triglycerida saturate media) (EP 0868, 2008).

[0063] O óleo das composições de emulsão de óleo-em-água aqui descrito pode adicionalmente compreender os triglicerídeos de cadeia média. Os "triglycerídeos de cadeia média" (MCTs) são outra classe de óleo de triglicerídeos que pode ser tanto de origem natural ou sintética. Os MCTs são formados a partir de ácidos graxos de 6 a 14 átomos de carbono, de preferência 6 a 12 átomos de carbono, especialmente de 8 a 10 átomos de carbono, em comprimento. Os triglycerídeos de cadeia média (MCT) administrados com as emulsões de óleo-em-água predominantemente servem como uma fonte de energia. O MCT está comercialmente disponível como, por exemplo, Miglyol 812 (SASOL GmbH, Alemanha), ou CRODAMOL GTCC-PN (Croda Inc., Nova Jersey).

[0064] De acordo com uma concretização preferida da presente invenção, a emulsão compreende um MCT que é constituído por glicerol que é esterificado com ácidos graxos contendo pelo menos 50% em peso de ácidos graxos selecionados a partir do grupo de ácidos graxos com 7, 9 e 11 átomos de carbono.

[0065] A combinação de MCT com os triglycerídeos de óleo de peixe, tal como definidos acima, pertence às vantagens para as emulsões de óleo-em-água da presente invenção.

[0066] De acordo com uma concretização preferida da presente invenção, a emulsão de óleo-em-água compreende triglycerídeos de

cadeia média, em uma quantidade que varia de 5 a 75% em peso, de preferência de 10 a 55% em peso e especialmente de 15 a 45% em peso, cada um com base no peso total do componente de óleo.

[0067] Em uma concretização preferida da invenção, a emulsão de óleo em água compreende os triglicerídeos de óleo de peixe e triglicerídeos de cadeia média em uma proporção de peso variando de 1:1 a 9:1, mais preferivelmente de 1,5:1 a 8:1, especialmente 2:1 a 7:1.

[0068] De acordo com uma concretização especialmente preferida, a quantidade de triglicerídeos de óleo de peixe e de MCT na fase oleosa é pelo menos 90% em peso, de preferência pelo menos 95% em peso, mais preferencialmente pelo menos 98% em peso, especialmente pelo menos 99% em peso, com base no peso total do componente de óleo.

[0069] O componente oleoso pode adicionalmente compreender outros óleos, os quais possuem preferencialmente um ponto de fusão de menos de 30° C, mais especificamente de menos de 20° C, e incluindo de menos de 10° C.

[0070] De preferência, o componente de óleo contém óleo que compreende pelo menos 75% em peso de triglicerídeos, ou pelo menos 85% em peso de triglicerídeos, com base no peso total do componente de óleo. Em uma concretização específica, o componente de óleo compreende pelo menos 90% em peso de triglicerídeos, ou pelo menos 95% em peso de triglicerídeos.

[0071] De acordo com outras concretizações específicas, a fase de óleo adicionalmente compreende "triglicerídeos de cadeia longa (TCL)".

[0072] Em certas concretizações o óleo pode compreender um óleo vegetal. "Óleo vegetal" refere-se a óleo derivado das sementes de plantas ou nozes. Os óleos vegetais são normalmente "triglicerídeos de cadeia longa (TCLs)" formados quando três ácidos graxos (geralmente 14 a 22 carbonos em comprimento, com ligações insaturadas em números e locais variáveis, dependendo da fonte de óleo) formam ligações de éster com os três grupos hidroxila do glicerol. Em certas concretizações, óleos vegetais de grau altamente purificado (também chamado "super-refinado") são utilizados para garantir a segurança e a estabilidade das emulsões de óleo-em-água. Em certas concretizações, os óleos vegetais hidrogenados, que são produzidos por hidrogenação controlada do óleo vegetal, podem ser utilizados.

[0073] Exemplos de óleos vegetais incluem, mas não estão limitados a óleo de amêndoas, óleo de babaçu, óleo de semente de groselha negra, óleo de borragem, óleo de canola, óleo de rícino, óleo de coco, óleo de milho, óleo de semente de algodão, óleo de oliva, óleo de amendoim, óleo de palma, óleo de palmiste, óleo de colza, óleo de cártamo, óleo de soja, óleo de girassol e óleo de sésamo. Formas hidrogenada e/ou parcialmente hidrogenadas destes óleos também podem ser utilizadas. Em concretizações específicas, o óleo adicionalmente compreende óleo de cártamo, óleo de sésamo, óleo de milho, óleo de oliva e/ou óleo de soja. Em concretizações mais específicas, o óleo adicionalmente compreende óleo de cártamo, e/ou óleo de soja.

[0074] Em concretizações específicas, em que o óleo compreende adicionalmente óleo de soja, o óleo de soja pode ter um teor de ácido palmítico (p/p) entre 9 e 13%, um teor em ácido

esteárico entre 2,5% e 5%, um teor em ácido oleico de entre 17% e 30%, um teor de ácido linoleico entre 48% e 58%, e um teor de ácido linolênico de entre 5% e 11%.

[0075] Além disso, em uma concretização específica, as composições de emulsão de óleo-em-água podem compreender triglicerídeos estruturados. Um "triglycerídeo estruturado", tal como aqui utilizado, é um triglycerídeo compreendendo triglicerídeos ou misturas de triglicerídeos possuindo pelo menos um grupo de ácido graxo com um comprimento de cadeia de carbono de 6 a 12 átomos de carbono e pelo menos um grupo de ácido graxo com um comprimento da cadeia de carbono de mais de 12 unidades de carbono.

[0076] Verificou-se que uma quantidade elevada de resíduos de ácidos graxos ômega-3 melhora o efeito dos hormônios no tratamento dos pacientes. Portanto, de acordo com uma concretização específica da invenção, a emulsão de óleo-em-água é essencialmente livre de óleo vegetal e/ou outros óleos que não os óleos de peixe e de MCT. Essencialmente livre, dentro do significado da presente invenção, significa que a quantidade é menor do que 10% em peso, de preferência inferior a 5% em peso, mais preferencialmente inferior a 2% em peso, especialmente menos do que 1% em peso, por exemplo, menos do que 0,1% em peso, com base no peso total da emulsão.

[0077] Em uma concretização específica, a emulsão não contém mais do que 0,9% p/p, incluindo não mais do que 0,8% p/p, ou não mais do que mais de 0,5% p/p, de um modificador de polaridade selecionado a partir do grupo consistindo em monoglicerídeos, diglicerídeos, monoglicerídeos acetilados, diglicerídeos

acetilados, e/ou suas misturas. Em uma outra concretização específica, a emulsão não contém mais do que 0,9% p/p, incluindo não mais do que 0,8% p/p, tal como não mais do que 0,5%p/p de monoglicerídeo.

[0078] Dito de outro modo, em concretizações específicas, a emulsão contém não mais do que 30%, incluindo não mais do que 20%, e não mais do que 10%, ou não mais do que 5% em peso de fosfolipídio, de um modificador de polaridade selecionado a partir do grupo consistindo de monoglicerídeos, diglycerídeos, monoglycerídeos acetilados, diglycerídeos acetilados e/ou suas misturas. O uso de um modificador de polaridade em uma concentração significativa em relação ao teor de fosfolipídio das emulsões pode ter um efeito adverso sobre as propriedades de estabilização do fosfolipídio.

[0079] Em concretizações específicas, a emulsão de óleo-em-água compreende 100 g/l a 300 g/l, preferencialmente 120 g/l 280 g/l e especialmente 150 g/l a 250 g/l de óleo, por exemplo, 200 g/l. Em certas concretizações, um excesso de 80% do progestogênio e/ou estrogênio é dissolvido e mantém-se dentro das gotículas de óleo. Em certas concretizações, mais do que 85%, 90%, 92%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou 99,5% do progestogênio e/ou estrogênio é dissolvido na fase de óleo (determinado em 20° C).

[0080] A emulsão de óleo-em-água da presente invenção compreende de preferência um emulsificante, que está particularmente presente em uma quantidade de até 50 g/l ou até 20 g/l, de preferência de 2 a 15 g/l.

[0081] A emulsão de óleo-em-água da presente invenção pode ainda compreender um ou mais emulsificantes/surfactantes, incluindo fosfolipídio. Em algumas concretizações, o agente emulsificante é de origem natural. Emulsificantes que ocorrem naturalmente incluem lecitina de soja, lecitina de ovo, lecitina de óleo de girassol, esfingosina, gangliosídeos, fitoestringosina, e suas combinações. Lecitina hidrogenada, isto é, o produto da hidrogenação controlada de lecitina, também pode ser utilizada na presente invenção.

[0082] Em concretizações específicas, a presente composição comprehende fosfolipídio como um surfactante. Exemplos de fosfolipídios úteis na presente invenção incluem, mas não estão limitados a fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, e suas misturas. Estes tipicamente têm 4 a 22 átomos de carbono, tal como de 10 a 18 átomos de carbono, e diversos graus de saturação. O componente de fosfolipídio das composições pode ser um único fosfolipídio ou uma mistura de vários fosfolipídios. Os fosfolipídios empregados podem ser naturais ou sintéticos, mas devem ser aceitáveis para utilização parental, especialmente para administração por via intravenosa.

[0083] Uma lista não exaustiva de fosfolipídios adequados é listada abaixo:

[0084] Ácidos fosfatídicos, incluindo ácido 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sódio (DMPA, Na), ácido 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sódio (DPPA, Na), 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sódio (DSPA, Na); fosfocolinas, incluindo 1,2-dilaurooil-sn-glicero-3-

fosfocolina (DLPC), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DMPC), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-distearoiloil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC); fosfoetanolaminas, incluindo 1,2-dilaurooil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DLPE), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DMPE), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DPPE), 1,2-distearoiloil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DSPE); fosfoglicerois, incluindo 1,2-dilaurooil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sódio (DLPG, Na), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sódio (DMPG, Na), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfo-sn-1-glicerol, sal de amônio (DMP-sn-1-G, NH4), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoglycerol, sal de sódio (DPPG, Na), 1,2-distearoiloil-sn-glicero-3-fosfoglycerol, sal de sódio (DSPG, Na), 1,2-distearoiloil-sn-glicero-3-fosfo-sn-1-glicerol, sal de sódio (DSP-sn-1G, Na); fosfoserinas, incluindo 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfo-L-serina, sal de sódio (DPPS, Na); fosfolipídios de cadeias mistas, incluindo 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglycerol, sal de sódio (POPG, Na), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglycerol, sal de amônio (POPG, NH4); lisofosfolipídios, incluindo 1-palmitoil-2-liso-sn-glicero-3-fosfocolina (P-liso-PC), 1-estearoil-2-liso-sn-glicero-3-fosfocolina (S-liso-PC); fosfolipídios peguilados, incluindo N-(carbonil-metoxipolietilenoglicol 2000)-MPEG-2000-DPPE, sal de sódio, N-(carbonil-metoxipolietilenoglicol 5000)-MPEG-5000-DSPE, sal de sódio, N-(carbonil-metoxipolietilenoglicol 5000)-MPEG-5000-DPPE, sal de sódio, N-(carbonil-metoxipolietilenoglicol 750)-

MPEG-750-DSPE, sal de sódio, N-(carbonil-metoxipolietilenoglicol 2000)-MPEG-2000-DSPE, sal de sódio.

[0085] Em uma concretização, a quantidade de fosfolipídio nas composições de acordo com a presente invenção, em peso com base no volume total da composição, está compreendida no intervalo de 0,5 a 25 g/l. Em certas concretizações, os fosfolipídios podem estar presentes dentro de um intervalo de 0,7 a 20 g/l, incluindo 0,8-18 g/l, tal como de 1 a 15 g/l.

[0086] Em outras concretizações específicas, a fonte do fosfolipídio emulsificante é a lecitina, tais como lecitina de ovo. De acordo com a Farmacopeia dos Estados Unidos (USP), a lecitina é uma denominação comum descrevendo uma mistura complexa de fosfolipídios insolúveis em acetona, que consistem principalmente em fosfatidileolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina e fosfatidilinositol, combinados com várias quantidades de outras substâncias tais como triglicerídeos, ácidos graxos e carboidratos.

[0087] Lecitina de soja e lecitina de ovo (incluindo as versões hidrogenadas destes compostos) têm um longo histórico de segurança em sistemas biológicos, possuem propriedades de emulsificação e de solubilização combinadas, e tendem a ser metabolizadas *in vivo* em substâncias inofensivas mais rapidamente do que a maior parte dos surfactantes sintéticos. Fosfolipídios/lecitina de soja comercialmente disponíveis são os produtos Centrophase e Centrolex (Central Soya), Phospholipidon) (Phospholipid GmbH, Alemanha), Lipoid (Lipoid GmbH, Alemanha), EPIKURON (Degussa), e PL90 (Fresenius Kabi, Suécia). Em

concretizações específicas, a fonte de fosfolipídio é a lecitina de ovo.

[0088] Em certas concretizações a quantidade total de emulsificante, incluindo fosfolipídio, nas composições estão dentro de uma faixa de 0,5 g/l a 48 g/l, especificamente de 0,8 g/l a 42 g/l, em peso com base no volume total da composição. Em certas concretizações, como por exemplo, em que o emulsificante é a lecitina de ovo, a quantidade de emulsificante está dentro de uma gama de 1 g/l a 39 g/l, tal como 3 g/l a 29 g/l, incluindo de 3,5 g/l para 27 g/l, incluindo a 4 g/l a 26 g/l, especialmente de 10 a 20 g/l, tal como 11 a 15 g/l.

[0089] Preferivelmente, a emulsão compreende fosfolipídios que compreendem moléculas de ácidos graxos ômega-3, de preferência fosfolipídios obtidos a partir de krill (*Euphausiacea*).

[0090] Em uma concretização, o emulsificante é a lecitina de ovo que compreende 60-80% p/p, tal como 67% p/p fospatidil colina; 10-20% p/p, tal como 15% p/p, fospatidiletanolamina; <= 3% p/p, tal como 2% p/p, esfingomielina; e <= 3% p/p, tal como 1% p/p, lisofosfatidilcolina.

[0091] "Lecitina de ovo PL90" (Fresenius Kabi AB) é um exemplo de uma lecitina de ovo com tal teor de fosfolipídio.

[0092] Verificou-se que os resíduos de ácidos graxos ômega-3 melhoram o efeito dos hormônios durante a terapia e profilaxia. Portanto, de acordo com uma concretização preferida particular, a emulsão de óleo-em-água compreende fosfolipídios que têm

moléculas de ácidos graxos ômega-3, preferencialmente fosfolipídios obtidos a partir de krill (*Euphausiacea*).

[0093] Os fosfolipídios que compreendem resíduos de ácido graxo ômega-3 podem ser obtidos a partir de krill. Por exemplo, o óleo de krill pode conter fosfolipídios contendo ácidos graxos ômega-3 em uma quantidade de cerca de 20 a cerca de 60%, por exemplo, a partir de cerca de 30 a cerca de 50%, com base no peso do óleo de krill. Em uma concretização exemplar, o krill pode conter triglicerídeos contendo ácidos graxos ômega-3 em uma quantidade de menos do que cerca de 30%, por exemplo, menos do que cerca de 5%, com base no peso do óleo de krill. Em uma concretização exemplar, o krill pode ser substancialmente livre de triglicerídeos contendo ácidos graxos ômega-3. Por exemplo, ambos os fosfolipídios (PLs) e triglicerídeos (TGs) possuem um esqueleto de 3 carbonos (triacilglicerol) em que determinados grupos funcionais atribuem a cada um dos átomos de carbono, com posições -1, -2, e -3 anotadas como SN1, SN2 e SN3, respetivamente. As posições SN1 e SN2 em ambos os PLs e os TGs podem conter ácidos graxos de cadeia longa, tais como os compostos de 18 carbonos (por exemplo, ácido linoleico, ácido oleico, ácido esteárico e alfa-linolênico) e/ou ácidos graxos de cadeia muito longa contendo 20 ou mais carbonos (por exemplo, ácidos araquidônico, eicosapentaenoico, docsapentaenoico e docosahexaenoico). Em TGs, a posição SN3 também é ocupada pelos ácidos graxos de cadeia longa acima mencionados, e como tal estes compostos são conhecidos como "gorduras neutras", enquanto que em PLs, a posição SN3 é ocupada por ácido fosfórico ligado a um álcool, tal como colina, etanolamina, serina, inositol, etc., que altera significativamente a molécula, conferindo-lhe as suas

propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas, conhecido como um composto anfifílico. Como parte da estrutura de construção das membranas biológicas, e possuindo propriedades anfifílicas, os PLs têm um papel vital em muitos processos metabólicos.

[0094] Em uma concretização exemplar, uma quantidade pré-determinada de fosfolipídios contendo ácido graxo ômega-3 contêm ácidos graxos ômega-3 ligados às primeira e segunda posições do fosfolipídio, mas não à terceira posição do fosfolipídio. Isto é, uma quantidade predeterminada dos fosfolipídios que contêm ácidos graxos ômega-3 pode conter um ácido graxo ômega-3 na segunda posição (isto é, a posição do meio) do fosfolipídio. Por exemplo, os fosfolipídios que contêm ácidos graxos ômega-3 contendo os ácidos graxos ômega-3 ligados às primeira e segunda posições do fosfolipídio, mas não à terceira posição do fosfolipídio, podem estar presentes em uma quantidade de cerca de 70% a cerca 80%, por exemplo, a partir de cerca de 80% a cerca de 95%, com base no peso total dos fosfolipídios que contêm ácido graxo ômega-3.

[0095] De acordo com um outro aspecto exemplar, um método de administração parental da emulsão de óleo-em-água é fornecido, o método compreendendo a administração parental a uma pessoa de uma composição contendo fosfolipídios obtidos a partir de crustáceo marinho em uma emulsão parental de óleo-em-água que contém concentrações protetoras do anti-oxidante de ocorrência natural, astaxantina, contra a decomposição química ou oxidação dos ácidos graxos ômega-3 insaturados presentes. A oxidação do ácido graxo ômega-3 poliinsaturado leva à formação de espécies de oxigênio reativas que podem ser prejudiciais ao serem

administradas por via intravenosa. Assim, uma emulsão de óleo em água rica em ácido graxo ômega-3 específico precisa de proteção contra a decomposição química. A astaxantina, encontrada no óleo de krill, pode proporcionar uma proteção única contra a oxidação dos ácidos graxos ômega-3 semelhantes na presença de alfa-tocoferol em óleo de soja que protege contra a oxidação dos ácidos graxos ômega-6. Como tal, assim como fosfolipídios à base de marinhos encontrados no óleo de krill contêm uma elevada concentração de n3-FAs que podem melhorar unicamente a estabilidade física da emulsão, de modo que também a presença de astaxantina em óleo de krill pode melhorar unicamente a estabilidade química da emulsão óleo de óleo-em-água. Assim como os aspectos exemplares de óleo de krill como um surfactante primário, ou o co-surfactante com fosfolipídios de ovo, é possível que a astaxantina possa ser o antioxidante principal, ou co-antioxidante com alfa-tocoferol.

[0096] Uma concretização adicional alternativa da presente invenção é um hormônio contendo emulsão de óleo-em-água para administração parental que compreende:

- a) progestogênio e/ou estrogênio tal como definido acima e
- b) um fosfolipídio obtido a partir de crustáceo marinho tal como definido acima.

[0097] Em uma concretização, a emulsão compreende não mais do que 1,5% p/p, não mais do que 1,2% p/p, ou não mais do que 0,8% p/p, incluindo não mais do que 0,4% p/p, de polietileno-glicol 15-hidroxiestearato. Em uma outra concretização, as composições

compreendem não mais do que 1,5% p/p, não mais do que 1,2% p/p, ou não mais do que 0,8% p/p, incluindo não mais do que 0,4%p/p, de éster de polietileno glicol e/ou polietileno-propileno glicol.

[0098] De acordo com algumas concretizações, a presente invenção proporciona composições farmacêuticas que compreendem progestogênio e/ou estrogênio, sendo que as referidas composições estão sob a forma de uma emulsão compreendendo uma fase aquosa, uma fase oleosa, e um surfactante.

Meio aquoso

[0099] Como observado acima, a emulsão de óleo-em-água da presente invenção compreende ainda um meio aquoso. "Meio aquoso" ou "fase aquosa" referem-se a um líquido contendo água. Em algumas concretizações, o meio aquoso é água e/ou uma solução tampão aquosa.

[0100] A emulsão de óleo-em-água da presente invenção pode compreender 70-98% em peso, preferivelmente 70 a 90% em peso.

[0101] Em algumas concretizações, a emulsão pode compreender de 0 a 4 mM de um agente tampão fisiologicamente compatível.

[0102] Em algumas concretizações, as emulsões de óleo-em-água de acordo com a presente invenção compreendem opcionalmente um co-surfactante. Co-surfactantes adequados para utilização nas emulsões da presente invenção são aqueles que impedem a flocação e/ou a coalescência da emulsão lipídica. Exemplos de co-surfactantes incluem, mas não estão limitados ao colesterol, ácido oleico, oleato, Tween 80 (mono-oleato de PEG-sorbitano),

HCO-60, Solutol H15 (polioxietileno-660-hidroxiestearato), PEG-400 (polietileno glicol), Pluronic F68 (BASF), Cremophor EL (polioxietileno-35-ricinoleato), ou o sal de um ácido biliar, tal como o ácido desoxicólico. Em outras concretizações o co-surfactante é selecionado a partir do grupo consistindo em ácidos graxos C12-C22, seus sais, e/ou suas misturas, como por exemplo a partir de ácidos graxos C16-C20, seus sais, e/ou suas misturas, ou a partir de ácidos graxos C18, seus sais, e/ou suas misturas. Em concretizações específicas, o ácido graxo é monoinsaturado.

[0103] Em algumas concretizações, o co-surfactante pode estar presente nas composições em uma quantidade (peso/volume) maior que ou igual a 0,005%, maior ou igual a 0,01%, ou maior ou igual a 0,02%. De acordo com uma dessas concretizações o co-surfactante pode estar presente em uma quantidade (peso/volume) inferior ou igual a 4%, menor ou igual a 1%, ou menor ou igual a 0,04%.

[0104] Em concretizações específicas, o co-surfactante é selecionado a partir do grupo consistindo em ácidos graxos de cadeia longa, tais como ácido palmítico, ácido oleico ou ácido esteárico, ou os seus sais alcalinos. Oleato e/ou ácido oleico, em especial oleato de sódio, são co-surfactantes particularmente adequados.

[0105] Em certas concretizações em que o co-surfactante é oleato e/ou ácido oleico, o co-surfactante pode estar presente em uma quantidade (peso/volume) igual ou superior a 0,005%, igual ou maior do que 0,01%, ou igual ou maior do que 0,02%. De acordo com uma dessas concretizações, o co-surfactante pode estar presente em uma quantidade (peso/volume) inferior ou igual a 0,5%, menor ou igual a 0,2%, menor ou igual a 0,1%, ou menor ou

igual a 0,05%. Em concretizações específicas, o co-surfactante é o oleato de sódio e está presente em uma quantidade de 0,03% p/v (0,3 g/l). As emulsões aqui descritas podem ser adequadas para infusão parenteral, tais como injeção intravenosa ou infusão intravenosa, durante períodos prolongados. A duração típica de tratamento pode ser, por exemplo, 3-7 dias. Em concretizações específicas, a concentração de certos co-surfactantes, por conseguinte, é mantida a um mínimo para evitar efeitos colaterais tais como irritação, inibição do citocromo P450, etc. Em concretizações específicas, Pluronic F68 (poli(etilenoglicol)-13-poli (propileno glicol co-propileno glicol) está presente em uma quantidade inferior a 0,7% (p/p), ou menos do que 0,5% (p/p). Em outras concretizações específicas, Solutol-HS (Macrogol-15-hidroxiestearato) está presente em uma quantidade menor do que 1,2% (p/p), ou menor do que 1% (p/p).

Agente osmótico

[0106] A emulsão de óleo-em-água de acordo com a invenção pode compreender um agente osmótico e/ou um modulador de tonicidade. Tais composições podem ter uma osmolalidade na faixa de 200-1000 mOsm/kg.

[0107] De acordo com concretizações específicas da invenção, as emulsões podem ser isotônicas e isosmóticas. As composições podem ter uma osmolalidade de 220-600 mOsm/kg, ou de 230-360 mOsm/kg.

[0108] Agentes moduladores de tonicidade e/ou osmóticos adequados incluem cloreto de potássio ou de sódio, trealose, sacarose, sorbitol, glicerol, glicose, xilitol, manitol,

polietileno glicol, propileno glicol, albumina, aminoácidos e misturas dos mesmos. Em certas concretizações, uma osmolalidade de 270-330 mOsm/kg, tal como 280-300 mOsm/kg, é alcançada com um agente que também aumenta a pressão osmótica, tal como glicerol, dextrose, lactose, sorbitol ou sacarose.

[0109] Em uma concretização, o agente osmótico é um poliol fisiologicamente aceitável, tal como glicerol, sorbitol ou xilitol. Em uma concretização específica, o agente osmótico é o glicerol.

[0110] O agente osmótico e/ou agente regulador de tonicidade é geralmente utilizado em uma quantidade que não têm efeitos biológicos adversos, mas que é suficiente para proporcionar composições isosmóticas e/ou isotônicas. Quando o glicerol é o agente osmótico, o glicerol pode estar presente na faixa de 2 a 5% (peso/volume), tal como 2,1% a 2,9% (peso/volume), incluindo 2,3% para 2,7%. Em concretizações específicas, as emulsões da presente invenção compreendem 2,5% de glicerol (25 g/l).

Agente regulador de pH

[0111] Em algumas concretizações, as emulsões de acordo com a presente invenção têm um pH dentro da faixa de pH 6,0 a pH 9,0, tal como pH 6,5 a pH 8,5, incluindo o pH de 7,0 a 8,0. O pH das composições pode ser ajustado por meio de métodos conhecidos na técnica, por exemplo, através da utilização de uma base apropriada que neutraliza a carga negativa nos ácidos graxos, através da utilização de um tampão apropriado, ou uma combinação dos mesmos. Uma grande variedade de bases e tampões é adequada para utilização com as emulsões da presente invenção. Um versado

na técnica deve notar que a adição de tampão à emulsão afetará não só o pH final, mas também a força iônica da emulsão. Tampões de alta força iônica podem impactar negativamente o potencial zeta da emulsão e, portanto, não são desejáveis. Em uma concretização específica, o pH é ajustado para o valor desejado por adição de hidróxido de sódio 1N.

Aditivos opcionais

[0112] A emulsão de acordo com a presente invenção compreende opcionalmente um ou mais aditivos farmaceuticamente aceitáveis, tais como ligantes, quelantes, agentes complexantes, conservantes (incluindo agentes antioxidantes e antimicrobianos), agentes modificadores da viscosidade e outros materiais biocompatíveis ou agentes terapêuticos.

Razões de componentes da composição

[0113] Embora quantidades exemplares de diferentes componentes que podem ser incluídos nas composições da invenção sejam apresentadas acima, outros aspectos da invenção referem-se a razões de componentes específicos, tal como discutido abaixo.

Emulsificante (Fosfolipídio): Óleo

[0114] Verificou-se que quantidades excessivas de fosfolipídio em emulsões de óleo-em-água podem levar a um aumento dos produtos de degradação de fosfolipídios seguidos da autoclave e/ou armazenamento, causando uma queda no pH, que por sua vez impacta negativamente sobre a estabilidade da emulsão.

[0115] Em uma concretização preferida, tal como em que o emulsificante é fosfolipídio, as emulsões compreendem o emulsificante em uma quantidade (expressa como %p/p do componente de óleo total) dentro do intervalo de 6,8 a 43%, tal como 8,4 a 42,5%, incluindo 12-26%, tal como 14-25%, incluindo 15 a 22%. Em uma concretização específica, o emulsificante é fosfolipídio e está presente em uma quantidade de 16-18% (p/p) do óleo.

[0116] Em concretizações adicionais preferidas, as emulsões de óleo-em-água compreendem fosfolipídio em uma quantidade, expressa em %p/p do óleo, maior do que ou igual a 6,8%, maior do que ou igual a 8,4%, maior do que ou igual a 12%, superior ou igual a 14%, ou maior do que ou igual a 15%. Em algumas concretizações, as composições compreendem fosfolipídio em uma quantidade expressa em %p/p do óleo, inferior ou igual a 43%, menos do que ou igual a 42,5%, menos do que ou igual a 26%, menos do que ou igual a 25%, ou menos do que ou igual a 22%.

[0117] Em uma outra concretização preferida da presente invenção, tal como em que a fonte de fosfolipídio é a lecitina, as composições compreendem lecitina em uma quantidade dentro do intervalo de 3 a 20% do óleo (p/p), tal como 4 a 18% de o óleo (p/p), incluindo 6-16% do óleo (p/p), tal como 8-14% de óleo (p/p). Em uma concretização específica, o emulsificante é a lecitina de ovo e está presente em uma quantidade de 19-21% (p/p) de óleo.

[0118] Em algumas concretizações, as emulsões da presente invenção compreendem a lecitina, tal como lecitina de ovo, em uma quantidade expressa em %p/p do óleo, maior ou igual a 8%,

maior do que ou igual a 10%, maior do que ou igual a 13%, maior do que ou igual a 15%, ou maior do que ou igual a 18%. Em algumas concretizações, as composições compreendem lecitina, tal como lecitina de ovo, em uma quantidade expressa em %p/p do óleo, de menos do que ou igual a 50%, menos do que ou igual a 48%, menos do que ou igual a 40%, menos do que ou igual a 33%, ou menos do que ou igual a 31%.

Co-surfactante: Óleo

[0119] Como notado acima, em certas concretizações da presente invenção, as composições compreendem um co-surfactante, tal como oleato ou ácido oleico. Em concretizações específicas, o co-surfactante pode estar presente em uma quantidade expressa em %p/p do componente de óleo, dentro da faixa de 0,08 a 2%, tal como 0,1-0,9%, inclusive 0,3 a 0,7%. Em uma outra concretização, o co-surfactante está presente em uma quantidade maior do que 0,02% p/p do referido óleo. Em uma concretização específica, o co-surfactante é oleato ou ácido oleico, e está presente em uma quantidade de 0,5% do óleo (p/p).

[0120] Em algumas concretizações, o co-surfactante está presente em uma quantidade expressa em %p/p do óleo, maior do que 0,02, maior do que ou igual a 0,08%, maior do que ou igual a 0,1%, ou maior do que ou igual a 0,3%. Em outras concretizações, a concentração de co-surfactante, em uma quantidade expressa como %p/p do óleo, é inferior ou igual a 2%, inferior ou igual a 0,9%, ou menos do que ou igual a 0,7%.

Co-surfactante: emulsificante (Fosfolipídio)

[0121] Em uma concretização preferida da presente invenção, as composições compreendem fosfolipídio como um emulsificante, e um co-surfactante, tal como oleato. Em aspectos específicos destas concretizações, o co-surfactante e o emulsificante podem estar presentes em uma razão de co-surfactante para fosfolipídio (p/p) no intervalo de 1:85 a 1:12, tal como 1:82 a 1:17, incluindo 1:68 a 1:20, tal como 1:51-1:26, incluindo 2:85 a 1:34.

[0122] Em concretizações preferidas, o co-surfactante e o fosfolipídio estão presentes em uma razão de co-surfactante para fosfolipídio (p/p) igual ou superior a 1:85, maior do que ou igual a 1:82, maior do que ou igual a 1:68, maior do que ou igual a 01:51, ou maior do que ou igual a 2:85. Em algumas concretizações, o co-surfactante e o fosfolipídio estão presentes em uma proporção de co-surfactante para fosfolipídio (p/p) igual ou inferior a 1:12, inferior ou igual a 1:17, inferior ou igual a 1:20, menor ou igual a 1:26, ou menor ou igual a 1:34.

[0123] Em uma concretização adicional preferida da presente invenção, as composições compreendem lecitina de ovo como emulsificante, e um co-surfactante, tal como oleato. Em aspectos específicos destas concretizações, o co-surfactante e o emulsificante podem estar presentes em uma razão de co-surfactante para lecitina (p/p) no intervalo de 1:100 a 1:15, tal como de 1:80 a 1:20, incluindo a 1:70 a 3:70, tal como de 1:60 a 1:30, incluindo 01:50-1:40.

[0124] Em concretizações específicas, o co-surfactante e a lecitina estão presentes em uma razão de co-surfactante para lecitina (p/p) igual ou superior a 1:100, maior do que ou igual a 1:80, maior do que ou igual a 1:70, maior do que ou igual a 1:60, ou maior ou igual a 1:50. Em algumas concretizações, o co-surfactante e a lecitina estão presentes em uma proporção (p/p) igual ou inferior a 1:15, inferior ou igual a 1:20, inferior ou igual a 3:70, inferior ou igual a 1:30, ou inferior ou igual a 1:40.

[0125] Em uma concretização específica, em que o co-surfactante é o oleato e o emulsificante é a lecitina de ovo, a razão de co-surfactante para emulsificante (p/p) está na faixa de 1:45 a 1:20, tal como de 1:40 a 1:25.

[0126] Embalagem

[0127] A emulsão de óleo-em-água da presente invenção pode ser fornecida na forma de composições prontas para utilização. "Pronto para utilização", tal como aqui utilizado, significa que nenhuma formulação adicional, tal como diluição ou mistura em conjunto de vários componentes, é necessária.

[0128] A emulsão de óleo-em-água da presente invenção pode ser fornecida em uma embalagem selada. A embalagem deve ser compatível para uso com formulações lipídicas e progestogênios e/ou estrogênio. Exemplos de materiais menos apropriados para embalagens de formulações oleosas incluem o PVC e DEHP. Embalagens adequadas que são compatíveis com as formulações oleosas incluem, mas não estão limitadas aos sacos à base de polipropileno e garrafas de vidro. Vidro convencional é um

material de embalagem adequado para as composições da presente invenção. Em concretizações específicas, a emulsão é embalada em um recipiente selado. O recipiente pode ser embrulhado para fornecer proteção contra o ambiente físico. Em uma concretização, a composição é embalada em um recipiente selado com um volume de 250 ml. Em uma concretização, a emulsão de óleo-em-água é embalada em um recipiente selado sob um espaço livre de gás inerte.

[0129] Em algumas concretizações, as composições são embaladas em contentores de inertes. Em algumas concretizações, os recipientes inertes são leve oclusos. Em outras concretizações, o recipiente compreende uma parede de dupla camada e, em concretizações mais específicas, a área entre as duas camadas é preenchida com um gás inerte, a fim de evitar a oxidação. Para um armazenamento prolongado, o material de embalagem impede vantajosamente a difusão de oxigênio a partir do ar ambiente para as composições da invenção, para evitar a formação de produtos de degradação de oxigênio dentro das composições.

[0130] Em algumas concretizações, a composição é embalada em uma dose unitária. Uma dose unitária pode fornecer composição suficiente para a administração de um progestogênio e/ou dose de bolus de estrogênio a um sujeito, ou para administração da composição ao longo de um período de tempo predeterminado, tal como a primeira hora, as primeiras 2 horas, as primeiras 4 horas, etc., de tratamento. A dose unitária permite a administração rápida e conveniente da composição em situações de emergência, por exemplo, por paramédicos na ambulância, ou por

socorristas/médicos no local em que uma lesão/evento ocorre. Exemplos não limitativos de formas de dose unitária são as injeções, as seringas pré-carregadas, frascos de vidro, e/ou sacos selados.

[0131] Em algumas concretizações, a composição é embalada dentro de um dispositivo semelhante a um dispositivo de insulina-bomba, que é utilizado para administrar uma terapia de infusão contínua, ou em um cartucho concebido para utilização com um tal dispositivo. Bombas de insulina exemplares são aquelas comercializadas por MiniMed e Disetronic. Essas bombas podem compreender, por exemplo, uma cânula, um reservatório da bomba ou cartucho, em que a composição é armazenada, uma bomba que pode ser operada por bateria, e meios para permitir ao utilizador controlar a quantidade exata de ingrediente ativo a ser entregue, tal como, por exemplo, um chip de computador.

Exemplo específico

[0132] Em uma concretização específica, a emulsão da presente invenção compreende:

- a) progesterona em uma quantidade entre 1,0 a 2,0 g/l;
- b) 100 a 300 g/l, com base na emulsão de óleo-em-água, de um componente de óleo que compreende

[0133]i) pelo menos 50% em peso de triglicerídeos de óleo de peixe, em que o triglicerídeo de óleo de peixe consiste em glicerol que é esterificado com ácidos graxos, sendo que os referidos ácidos graxos incluem

o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) em uma quantidade de pelo menos 45% em peso dos referidos ácidos graxos e de preferência a quantidade total de ácidos graxos ômega-3 é de pelo menos 50% em peso dos referidos ácidos graxos; e

ii) 10 a 50% em peso de MCT, com base no peso total do componente de óleo;

[0134] c) 4 a 20 g/l de um fosfolipídio, de preferência, 8 a 20 g/l de um fosfolipídio e

d) 10 a 50 g/l de glicerol.

[0135] Em uma concretização específica, a emulsão da presente invenção compreende

a) estradiol em uma quantidade que varia entre 0,05 e 1,0 g/l e a progesterona em uma quantidade de 1,0 a 2,0 g/l;

b) 100 a 300 g/l, com base na emulsão de óleo-em-água, de um componente de óleo que compreende

i) pelo menos 50% em peso de triglicerídeos de óleo de peixe, sendo que o triglicerídeo de óleo de peixe consiste em glicerol que é esterificado com ácidos graxos, sendo que os referidos ácidos graxos incluem o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) em uma quantidade de pelo menos 45% em peso dos referidos ácidos graxos e de preferência a quantidade total de

ácidos graxos ômega-3 é de pelo menos 50% em peso dos referidos ácidos graxos; e

[0136]ii) 10 a 50% em peso de MCT, com base no peso total do componente de óleo;

c) 4 a 20 g/l de um fosfolipídio, de preferência, 8 a 20 g/l de um fosfolipídio e

d) 10 a 50 g/l de glicerol.

[0137] Em uma concretização específica, a emulsão da presente invenção compreende

a) estradiol em uma quantidade que varia entre 0,05 e 1,0 g/l;

b) 100 a 300 g/l, com base na emulsão de óleo-em-água, de um componente de óleo que compreende

i) pelo menos 50% em peso de triglicerídeos de óleo de peixe, sendo que o triglicerídeo de óleo de peixe consiste em glicerol que é esterificado com ácidos graxos, sendo que os referidos ácidos graxos incluem o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) em uma quantidade de pelo menos 45% em peso dos referidos ácidos graxos e de preferência a quantidade total de ácidos graxos ômega-3 é de pelo menos 50% em peso dos referidos ácidos graxos; e

- ii) 10 a 50% em peso de MCT, com base no peso total do componente de óleo;
- c) 4 a 20 g/l de um fosfolipídio, de preferência, 8 a 20 g/l de um fosfolipídio e
- d) 10 a 50 g/l de glicerol.

Propriedades da Emulsão

[0138] Composições de acordo com a presente invenção possuem tipicamente uma aparência branca leitosa, e presentes como emulsões visualmente homogêneas.

Distribuição do Tamanho de Partícula das Gotículas de Emulsão

Valor PFAT5

[0139] A Farmacopeia dos Estados Unidos (USP) define o limite para distribuição de tamanho de glóbulo em emulsões lipídicas injetáveis (USP 729-Pharm Forum 2005; 3:1448-1453). O limite para glóbulos de gordura de diâmetro $> 5 \mu\text{m}$ em emulsões injetáveis, expresso como percentual de gordura ponderada por volume $> 5 \mu\text{m}$, não excede 0,05%, ou PFAT5 não excede 0,05% (USP 729-Pharm. Forum. 2005; 3:1448-1453). As composições que têm um PFAT5, valor superior a 0,05% são consideradas inseguras para administração intravenosa. O valor PFAT5 de uma emulsão pode ser influenciado por vários fatores, incluindo o conteúdo de óleo total da emulsão, do tipo e da quantidade de fosfolipídio, a escolha do co-surfactante, a proporção de co-surfactante para óleo, e a estabilidade das gotículas da emulsão à coalescência e/ou floculação.

[0140] Em concretizações específicas, as composições de acordo com a presente invenção têm um valor PFAT5 de menos do que ou igual a 0,05%, tal como menos do que ou igual a 0,04%, incluindo menos do que ou igual a 0,02%, tal como menos do que ou igual a 0,01%.

[0141] Em uma concretização, com 100% das gotículas da emulsão de uma composição da presente invenção são menores do que ou iguais a 5 μm de diâmetro, e pelo menos 98% das gotículas, incluindo 99% das gotículas, são menores do que ou iguais a 1,5 μm de diâmetro. A distribuição do tamanho de partícula das gotículas maiores que 1 μm de diâmetro é determinada pelo contador de Coulter (Coulter Multisizer III).

[0142] PCS

[0143] Em uma concretização, as gotículas menores do que ou iguais a 1 μm de diâmetro tem uma média-z de PCS máxima de 350 nm, e/ou um valor de polidispersão PCS de não mais do que 0,25. Em uma concretização específica, as gotículas de menos do que ou igual a 1 μm de diâmetro tem uma média-z máxima de 250 nm, e/ou um valor de polidispersão de não mais do que 0,20. Em uma concretização ainda mais específica, as gotículas menores ou iguais a 1 μm de tamanho têm uma média-z máxima de 220 nm, e/ou um valor de polidispersão de não mais do que 0,15.

Tamanho de Gotícula Mediano

[0144] O tamanho das gotículas da emulsão é o parâmetro chave na determinação da cinética de desestabilização da emulsão, uma vez que o tamanho das gotículas influencia diretamente a taxa de fenômenos como, coalescência, espuma, floculação, amadurecimento

de Ostwald e, finalmente, a separação de fases. O tamanho das gotículas da emulsão, por conseguinte, é indicativo de estabilidade da emulsão. Vários parâmetros influenciam o tamanho das gotículas da emulsão, incluindo, por exemplo, o tipo de óleo, o surfactante e o tipo de co-surfactante, presença de ingredientes ativos, a quantidade de óleo, proporções de óleo-para-surfactante e óleo-para-co-surfactante.

[0145] Em uma concretização específica, as composições de acordo com a presente invenção mantêm um diâmetro mediano com base no volume, ou $D[4,3]$, de ≤ 300 nm, tal como ≤ 230 nm, incluindo cerca de ≤ 200 nm, tal como ≤ 185 nm, incluindo cerca de ≤ 180 nm, após a autoclave a 121° C durante 15 minutos, e/ou após o armazenamento a 60° C durante pelo menos 3 semanas, incluindo 4 semanas.

Tamanho de Gotícula Médio

[0146] Em uma concretização, as partículas de gotículas da emulsão de composições de acordo com a presente invenção têm um diâmetro médio baseado no volume, ou $d(0,5)$ de ≤ 320 nm, tal como ≤ 250 nm, incluindo ≤ 200 nm, tal como ≤ 185 nm, incluindo ≤ 180 nm. De preferência, as partículas das gotículas variam de 240 a 320 nm.

[0147] Em uma concretização específica, as composições de acordo com a presente invenção mantêm um diâmetro médio baseado no volume, ou $d(0,5)$ de ≤ 300 nm, tal como ≤ 250 nm, incluindo ≤ 200 nm, tal como ≤ 185 nm, incluindo ≤ 180 nm, após a autoclave a 121° C durante 15 minutos, e/ou após armazenamento a 60° C durante pelo menos 3 semanas, incluindo 4 semanas.

Potencial Zeta

[0148] O potencial zeta está relacionado com a estabilidade da emulsão. Emulsões com um potencial zeta alto são eletricamente estabilizadas enquanto que aqueles com baixos potenciais zeta tendem a coagular ou flocular. O potencial zeta das emulsões é influenciado, por exemplo, pela escolha e quantidade de surfactante e co-surfactante, o pH das emulsões, bem como a força iônica da solução aquosa.

[0149] Em uma concretização, as composições da presente invenção têm um potencial zeta na faixa de, -30 mV a -70 mV, tal como -40 mV a -65 mV, incluindo -51 mV a -60 mV. Além disso, o potencial zeta das composições da emulsão da presente invenção podem ser -30 mV, -35 mV, -40 mV, -45 mV, -50 mV, -55 mV, -60 mV, -65 mV ou -70 mV ou superior.

Material Particulado

[0150] Em certas concretizações, as emulsões da presente invenção são livres de sólido cristalino à temperatura ambiente (por exemplo, a uma ou mais temperaturas selecionadas a partir de 4° C, a partir de 2° C a 8° C ou a partir de 20° C a 25° C). Em concretizações específicas, as composições da emulsão da presente invenção satisfazem os padrões de tamanho de partículas e contagem em líquidos de injeção (USP 788, Método 2- Teste de contagem de partículas microscópicas). Por exemplo, as composições podem conter de 0-12 partículas por ml iguais a ou maiores do que 10 µm e 0-2 partículas por ml iguais a ou maiores do que 25 µm.

Estabilidade das emulsões

Esterilidade

[0151] Em concretizações específicas, as emulsões de acordo com a presente invenção são estéreis. Tal como aqui utilizado, "estéril" refere-se a composições que satisfazem os requisitos do Capítulo <71> da USP. Em concretizações específicas, as composições satisfazem os requisitos do Capítulo <85> da USP "Teste de endotoxina bacteriana", e opcionalmente, adicionalmente satisfazem os requisitos do Capítulo <151> da USP "teste de pirogênio"

[0152] Em concretizações específicas, as emulsões da presente invenção conseguem uma melhor solubilidade de progesterona e/ou estrogênio, enquanto mantêm ou melhoram a estabilidade química e/ou a estabilidade física das emulsões. Em concretizações específicas, as composições podem ser esterilizadas por calor em autoclave a 121° C durante 15 minutos, sem comprometer a integridade física e química das emulsões. A esterilização por autoclave é benéfica, não só em termos de segurança microbiológica, mas também é economicamente mais rentável, quando comparada, por exemplo, a esterilização por filtração.

[0153] Além disso, em concretizações específicas, as emulsões apresentam vantagens de segurança sobre o estado da técnica, tal como, por exemplo, (a) as composições cumprem os padrões de tamanho de partículas e contagem em líquidos de injeção (USP 788, Método 2) e/ou compreendem um menor nível de cristais de progestogênio e/ou estrogênio, (b) as composições têm um valor PFAT5 baixo (como discutido em mais detalhes acima), (c) as

composições contêm níveis mais baixos de impurezas químicas, (d) as composições podem ser esterilizadas em autoclave utilizando o método padrão-ouro para a segurança microbiológica, e/ou (e) as composições não compreendem álcool ou solventes orgânicos potencialmente tóxicos.

[0154] Como resultado de uma ou mais das vantagens acima descritas das composições aqui descritas, as emulsões proporcionam uma melhoria da disponibilidade do progestogênio nelas contido (por exemplo, boa farmacocinética e biodisponibilidade, tal como pode ser refletido em níveis de hormônios no soro e/ou concentração de plasma), e a administração das emulsões proporciona uma melhor consistência na dosagem do paciente, em relação às composições do estado da técnica.

[0155] Finalmente, as composições da emulsão de acordo com a presente invenção, além de serem convenientes e seguras de se utilizar, são vantajosamente fornecidas na forma estéril, pronta para uso, têm uma vida útil de 1 ou 2 anos à temperatura ambiente.

Processo de Fabricação

[0156] Uma concretização adicional da presente invenção é um processo para a preparação da emulsão de óleo-em-água da invenção.

[0157] O processo compreende as etapas de:

a) dissolver progestogênio e/ou estrogênio em uma fase de óleo compreendendo triglicerídeos de óleo de peixe, sendo que os triglicerídeos de óleo de peixe consistem em glicerol que é esterificado com ácidos graxos, em que os referidos ácidos graxos

incluem o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) em uma quantidade de pelo menos 45% em peso dos referidos ácidos graxos e de preferência a quantidade total de ácidos graxos ômega-3 é de pelo menos 60% em peso dos referidos ácidos graxos;

b) emulsionar a fase oleosa na fase aquosa, de preferência na presença de um emulsificante.

[0158] Em outro aspecto, a presente invenção refere-se a um método de fabricação de composições da emulsão de óleo-em-água tal como definida aqui anteriormente, o método compreendendo as etapas de:

a) combinar água, e fosfolipídio, e opcionalmente um agente osmótico para produzir uma composição aquosa;

b) combinar progesterona e/ou estrogênio e óleo para a produção de uma composição oleosa; e

c) combinar a composição aquosa e a composição oleosa, seguido por homogeneização para formar uma emulsão homogênea de óleo-em-água.

[0159] De acordo com uma concretização específica, a composição aquosa é homogeneizada de modo a produzir uma suspensão homogênea, antes de a referida composição aquosa ser combinada com a composição oleosa. Em uma outra concretização vantajosa, o progestogênio e/ou estrogênio é adicionado ao óleo a uma temperatura de pelo menos 40° C para facilitar a diluição do progestogênio e/ou estrogênio. Em outras concretizações

específicas, a composição oleosa é filtrada antes de ser combinada com a composição aquosa.

[0160] Em algumas concretizações muito específicos, os métodos de fabricação compreendem as seguintes etapas:

- A) dissolver um agente osmótico opcional em um meio aquoso e agitar;
- B) adicionar emulsificante, tal como lecitina de ovo, e agitar;
- C) opcionalmente adicionar um co-surfactante e opcionalmente um agente de regulação do pH e misturar;
- D) dissolver a progesterona e/ou de estrogênio em óleo para formar uma fase de óleo;
- E) filtrar a fase de óleo, seguido pela adição da fase oleosa filtrada para a fase aquosa, e misturar;
- F) homogeneizar para formar uma emulsão homogênea;
- G) opcionalmente adicionar água;
- H) opcionalmente adicionar NaOH 1 N suficiente para ajustar o pH para 8,0-8,8;
- I) opcionalmente adicionar meio aquoso suficiente para atingir o volume final.

[0161] Em uma concretização específica, a homogeneização é realizada em mais de ou igual a 350 bar, ou mais de ou igual a 370 bar.

[0162] Em concretizações específicas, os métodos de fabricação das emulsões envolvem as etapas de dissolver a lecitina de ovo em meio aquoso (em vez de em óleo), adicionar a fase oleosa à fase aquosa (em vez de vice-versa), e homogeneizar em mais de ou igual a 350 bar. Acredita-se estas etapas resultam em emulsões com propriedades vantajosas em termos de tamanho de partícula e a estabilidade da emulsão.

[0163] Em outras concretizações específicas, a emulsão é embalada em recipientes selados, e esterilizados, tal como por aquecimento a pelo menos 121° C (por exemplo, 121° C a 123° C) por um período mínimo de tempo de retenção de 15 minutos. O programa de autoclave pode ser um ciclo de rotação.

[0164] Em outras concretizações muito específicas, os métodos de fabricação compreendem as seguintes etapas:

- A) dissolver um agente osmótico em um meio aquoso e a agitar;
- B) adicionar fosfolipídio, especificamente lecitina de ovo e agitar;
- C) opcionalmente adicionar um co-surfactante e um agente de regulação do pH e misturar;
- D) dissolver progesterona e/ou estrogênio em triglicerídeos de óleo de peixe para formar uma fase de óleo;

- E) filtrar a fase de óleo, seguido pela adição da fase oleosa filtrada para a fase aquosa, e misturar;
- F) homogeneizar para formar uma emulsão homogênea;
- G) opcionalmente adicionar água;
- H) opcionalmente adicionar NaOH 1 N suficiente para ajustar o pH para 8,0-8,8;
- I) opcionalmente adicionar meio aquoso suficiente para atingir o volume final.

[0165] O seguinte fornece um exemplo detalhado de um método de fabricação. O versado na técnica prontamente entenderá que várias modificações e variações podem ser feitas, e ainda cair dentro do âmbito da invenção.

Método de Tratamento

[0166] Uma concretização adicional da presente invenção é uma composição farmacêutica compreendendo ou consistindo na emulsão de óleo em água da presente invenção.

[0167] Preferencialmente, a composição farmacêutica da presente invenção é para utilização no tratamento ou profilaxia de danos neurológicos após acidentes vasculares cerebrais e/ou traumas.

[0168] De acordo com uma concretização adicional preferida, a composição farmacêutica da presente invenção é para utilização no tratamento de profilaxia de danos neurológicos após concussão ou para uso no tratamento de profilaxia de eventos traumáticos.

[0169] As emulsões descritas aqui podem ser administradas por via parental, tal como por via intravenosa ou intra-arterial, a indivíduos para uso terapêutico ou profiláctico. Em concretizações específicas o indivíduo é um mamífero, tal como um humano.

[0170] As emulsões aqui descritas têm propriedades neuro-protetoras e/ou neuro-regenerativa. As composições, portanto, são úteis no tratamento ou prevenção de desordens ou condições do sistema nervoso. Desordens e condições exemplares incluem, mas não estão limitadas a, desordens ou condições do sistema nervoso central (SNC), lesão da medula espinal, lesão cerebral traumática, traumatismo craniano leve, incluindo concussão caracterizada por uma perda temporária da função cerebral, lesão cerebral pediátrica, desordens degenerativas do SNC, tais como a doença de Parkinson, demência, incluindo a doença de Alzheimer, condições desmielinizantes tais como esclerose múltipla e crônica, neuropatologia periférica diabética.

[0171] Outras doenças e condições exemplares incluem condições isquêmicas neurológicas, como lesão isquêmica do SNC, acidente vascular cerebral, incluindo acidente vascular cerebral isquêmico, acidente vascular cerebral hemorrágico e ataques isquêmicos transitórios, e deficiências cognitivas atribuídas à circulação extracorpórea durante a cirurgia cardíaca, por exemplo, síndrome pós-perfusão. Outros exemplos incluem afasia, distúrbios do sono e os transtornos de ansiedade, como transtorno de estresse pós-traumático.

[0172] As composições também são úteis para proporcionar alívio dos sintomas associados com as desordens acima listadas,

tais como a restauração da função cognitiva, restauração dos padrões de sono, normalização das desordens de humor, etc. As composições farmacêuticas também são úteis para tratar perturbações de stress pós-traumático.

[0173] De acordo com uma concretização, a presente invenção proporciona métodos de tratamento de um sujeito mamífero com uma lesão traumática do SNC, tal como uma lesão cerebral traumática. Exemplos de métodos incluem o tratamento de uma TBI em um sujeito mamífero por administração ao sujeito em necessidade de uma composição farmacêutica de acordo com a presente invenção, de tal modo que uma concentração terapeuticamente eficaz de progestogênio e/ou estrogênio é entregue. Em uma concretização específica o indivíduo mamífero é um ser humano. Por exemplo, os métodos da presente invenção podem compreender a administração parental do progestogênio e/ou composições farmacêuticas compreendendo estradiol da presente invenção a um sujeito possuindo uma lesão traumática do SNC, tal como uma TBI. Em conformidade com o método da presente invenção, a composição farmacêutica é utilizada para promover uma resposta terapêutica positiva com respeito à lesão traumática do sistema nervoso central.

[0174] A lesão cerebral traumática é um dano físico ao tecido cerebral que prejudica temporariamente ou permanentemente a função cerebral. O diagnóstico é suspeitado clinicamente e pode ser confirmado pela imagem (principalmente CT). As manifestações clínicas variam muito em termos de gravidade e consequências. As lesões são normalmente classificadas como aberta ou fechada. Lesões abertas envolvem penetração do couro cabeludo e crânio.

Lesões fechadas geralmente ocorrem quando a cabeça é atingida, atinge um objeto, ou se agita violentamente, causando aceleração e desaceleração rápida do cérebro.

[0175] As composições farmacêuticas da invenção podem ser utilizadas para tratar uma TBI, incluindo traumas contusos (por exemplo, lesões fechadas), assim como traumas penetrantes. Por "tratamento", entende-se qualquer melhoria no indivíduo que possui o traumatismo do SNC, incluindo tanto uma melhoria na recuperação morfológica (ou seja, a viabilidade do tecido aumentada) e/ou recuperação de comportamento. A melhoria pode ser caracterizada como um aumento tanto na taxa e/ou na extensão da recuperação comportamental e anatômica após a lesão traumática do SNC. Deste modo, uma "resposta terapêutica positiva" inclui tanto uma resposta completa e uma resposta parcial. Vários métodos para determinar se uma resposta terapêutica parcial ou completa ocorreu são discutidos em detalhes nos pedidos de patente WO2006/102644, WO2006102596, e WO2008/039898.

[0176] Por "quantidade terapeuticamente eficaz", entende-se uma quantidade de progestogênio e/ou estrogênio que seja suficiente para provocar um efeito terapêutico. Assim, em algumas concretizações, a quantidade de um progestogênio e/ou estrogênio em uma dose unitária administrada de acordo com a presente invenção é eficaz no tratamento ou prevenção de danos neuronais que seguem uma lesão traumática do sistema nervoso central e, portanto, provoca um efeito neuroprotetor. A neurodegeneração é a perda progressiva de neurônios no sistema nervoso central. Tal como aqui utilizado, "neuroproteção" é a

captura e/ou inverso de progressão da neurodegeneração após uma lesão traumática do SNC. A quantidade terapeuticamente eficaz irá depender de diversos fatores, incluindo, por exemplo, a atividade específica do progestogênio e/ou estrogênio, da gravidade e do padrão da lesão traumática, da lesão neuronal resultante, da capacidade de resposta do paciente, do peso do paciente, juntamente com outras variabilidades intra-pessoal, do modo e/ou do método de administração, e da composição farmacêutica utilizada.

[0177] As composições farmacêuticas da presente invenção podem ser administradas utilizando qualquer método aceitável conhecido na técnica, incluindo a administração intravenosa (IV), injeção intramuscular (IM) ou injeção subcutânea (SC). Em concretizações específicas da invenção, a composição é administrada por via intravenosa, tal como por injeção IV. Quando administrado por via intravenosa, a composição pode ser administrada por infusão ao longo de um período de 1 a 144 horas.

[0178] Progestogênio e/ou estrogênio podem ser administrados uma vez ou várias vezes por dia. A duração do tratamento pode ser uma vez por dia durante um período de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ou mais dias. A dose diária pode ser administrada por uma dose única na forma de uma unidade de dosagem individual ou de várias unidades de dosagem menores ou por administração múltipla de doses subdivididas em determinados intervalos. As unidades de dosagem subsequentes podem ser administradas em qualquer altura após a administração inicial de modo que o efeito terapêutico seja alcançado. Por exemplo, as unidades de dosagem adicionais podem ser administradas para proteger o indivíduo da segunda

onda de edema que possa ocorrer durante os primeiros dias pós-lesão. Em uma concretização específica, a primeira unidade de dosagem é administrada não mais tarde do que a partir de 8 horas após a lesão.

[0179] Em concretizações específicas da invenção, o progestogênio e/ou estrogênio é administrado em um regime de dosagem constante. Por "regime de dosagem constante", entende-se que o progestogênio e/ou estrogênio é administrado em uma dose de infusão total constante de hora em hora de progestogênio e/ou estrogênio ao longo do curso do tratamento.

[0180] Em concretizações adicionais da presente invenção, pelo menos um agente neuroprotetor adicional pode ser administrado em combinação com o progestogênio e/ou estrogênio (tanto como parte da mesma composição como em uma composição separada) para melhorar a neuroproteção após uma lesão traumática do SNC.

[0181] Tendo agora descrito de forma geral esta invenção, a mesma será melhor compreendida por referência a certos exemplos específicos que aqui são incluídos para fins de ilustração apenas, e não se destinam a ser limitativos da invenção.

EXEMPLOS

Procedimento geral para a preparação de uma emulsão de óleo contendo hormônios

[0182] Após a mistura de glicerol e uma parte da água, o emulsificante (lecitina de ovo) e o co-emulsificante oleato de sódio são dispersos pelo homogeneizador de células Ultra-Turrax®

(solução I). Em paralelo, a fase de óleo, opcional com tocoferol, é preparada e estradiol e progesterona são dissolvidos em 70° C sob uma atmosfera de nitrogênio inerte (solução II). A Solução II é adicionada a solução I utilizando um homogeneizador de células Ultra-Turrax seguida por 4 a 5 ciclos de homogeneização em um homogeneizador de alta pressão sob pelo menos 400 bar a 800 bar por 30° C a 70° C. Em seguida, o resto da água é adicionado e o valor do pH da emulsão resultante de óleo-em-água é ajustado para 7,5 a 9,0 com possível hidróxido de sódio como uma solução.

[0183] Depois de ser introduzida em um recipiente de qualidade adequada, a emulsão é esterilizada por calor por métodos conhecidos. Uma emulsão o/a estéril e estável resulta com gotículas de lipídio possuindo um tamanho médio de gotículas de óleo de menos de 0,5 µm e uma estabilidade de armazenamento de pelo menos 18 meses.

Tabela 1

	Quantidade por 1000 ml	Quantidade por 30 l
progesterona	1,500 g	45,00 g
estradiol	0,150 g	4,500 g
Triglicerídeos de cadeia média	20,0 g	600,0 g
Triglicerídeo de óleo de peixe ¹⁾	180,0 g	5400,0 g
Lectina de ovo	12,00 g	360,0 g
glicerol	25,00 g	750,0 g
Oleato de sódio	0,300 g	9,0 g
α-tocoferol	0,200 g	6,0 g
NaOH	máx 0,06 g	máx 1,8 g

Água para injeção	ad 1000 ml	ad 30,0 l
-------------------	------------	-----------

¹⁾ A quantidade de EPA e DHA é de 55,5% em peso, com base na quantidade total de ácidos graxos no triglicerídeo de óleo de peixe. A proporção em peso de EPA para DHA é de 3:2.

Tabela 2

	Quantidade por 1000 ml	Quantidade por 30 l
progesterona	1,500 g	45,00 g
estradiol	0,150 g	4,500 g
Triglicerídeos de cadeia média	60,0 g	1800,0 g
Triglicerídeo de óleo de peixe ¹⁾	140,0 g	4200,0 g
Lectina de ovo	12,00 g	360,0 g
glicerol	25,00 g	750,0 g
Oleato de sódio	0,300 g	9,0 g
α-tocoferol	0,200 g	6,0 g
NaOH	máx 0,06 g	máx 1,8 g
Água para injeção	ad 1000 ml	ad 30,0 l

¹⁾ A quantidade de EPA e DHA é de 55,5% em peso, com base na quantidade total de ácidos graxos no triglicerídeo de óleo de peixe. A proporção em peso de EPA para DHA é de 3:2.

Tabela 3

	Quantidade por 1000 ml	Quantidade por 30 l
progesterona	1,500 g	45,00 g
estradiol	0,150 g	4,500 g
Triglicerídeos de cadeia média	100,0 g	3000,0 g

Triglicerídeo de óleo de peixe ¹⁾	100,0 g	3000,0 g
Lectina de ovo	12,00 g	360,0 g
glicerol	25,00 g	750,0 g
Oleato de sódio	0,300 g	9,0 g
α-tocoferol	0,200 g	6,0 g
NaOH	máx 0,06 g	máx 1,8 g
Água para injeção	ad 1000 ml	ad 30,0 l

¹⁾ A quantidade de EPA e DHA é de 55,5% em peso, com base na quantidade total de ácidos graxos no triglicerídeo de óleo de peixe. A proporção em peso de EPA para DHA é de 3:2.

Experimentos utilizando um modelo de acidente vascular cerebral

[0184] A fim de determinar os efeitos da emulsão da invenção no tratamento de danos neurológicos após derrame, as emulsões como refletidas na Tabela 4 foram analisadas.

Tabela 4

Componentes	Exemplo 1 (Lipofundin MCT)	Exemplo 2 (emulsão 5:5)	Exemplo 3 (emulsão 9:1)
Óleo de soja (LCT)	100 g	--	--
MCT ¹⁾	100 g	100 g	20 g
Triglicerídeos de óleo de peixe ²⁾	--	100 g	180 g

Lectina de ovo	12 g	12 g	12 g
Glicerol	25 g	25 g	25 g
Oleato de sódio	0,3 g	0,3 g	0,3 g
α -tocoferol	0,2 g	0,2 g	0,2 g
NaOH	máx. 0,06 g	máx. 0,06 g	máx. 0,06 g
Água para injeção	ad 1000 ml	ad 1000 ml	ad 1000 ml

¹⁾ triglicerídeos de cadeia média

²⁾ a quantidade de EPA e DHA é de 55% em peso com base no peso total dos ácidos graxos no triglicerídeo de óleo de peixe. A proporção em peso de EPA para DHA é de 3:2

[0185] O modelo de acidente vascular cerebral para determinar os efeitos das emulsões da invenção é descrito em J. Dong, B. Mitkari, M. Kipp e C. Beyer Brain, Behavior, and Immunity 25 (2011) 715-726.

Método

[0186] Procedimento de oclusão transiente da artéria cerebral média experimental (+MCAO) e de animais em ratos Wistar machos normais

[0187] Ratos machos Wistar (aproximadamente 300 g, 3 meses de idade, Charles River, Alemanha) foram mantidos em um ambiente livre de patógenos. Os animais foram submetidos a uma manutenção

de gaiola rotineira uma vez por semana e monitoramento microbiológico de acordo com as recomendações da Federação Europeia das Associações de Ciência em Animais de Laboratório.

[0188] Alimentos e água foram *ad libitum*. Procedimentos de pesquisa e de cuidados com os animais foram aprovados pelo Conselho de Revisão para o Cuidado de Assuntos Animais do governo distrital (Nordrhein-Westfalen, Alemanha). Os animais foram anestesiados com isoflurano 5% (Abbott, Ludwigshafen, Alemanha), e mantidos em isoflurano a 1,5-2,5% (dependendo do animal individual e etapa de operação) utilizando uma máscara facial. Depois de uma incisão na linha média do pescoço, a artéria carótida comum esquerda (CCA), artéria carótida interna (ACI) e a artéria carótida externa (ACE) foram expostas. Posteriormente, o ECA proximal e CCA foram ligados. O nervo vago foi cuidadosamente preservado tanto quanto possível. Um cateter disponível comercialmente (Asahi PTCA Guide Wire Soft, Abbott Vascular, Alemanha) foi subsequentemente introduzido a partir do lúmen do CCA distal logo antes da bifurcação no ICA, tão longe quanto uma resistência foi observada manualmente. Assim, a origem da artéria cerebral média (ACM) foi ocluída pela ponta do cateter para se obter uma redução do fluxo sanguíneo cerebral (CBF) em >50% em comparação com os valores basais (ver abaixo). A temperatura corporal foi mantida a 37-37,5° C com uma almofada de aquecimento e lâmpada durante todo o procedimento de cirurgia. Após uma hora, o cateter foi retraído e o período de reperfusão iniciado. Em seguida, os vasos expostos foram cuidadosamente ligados para evitar o sangramento, a incisão é fechada em condições assépticas, e os animais voltaram para as suas gaiolas. 23 horas mais tarde, os ratos foram profundamente anestesiados

com isoflurano 5% e a coloração de tecido, a análise molecular, e os testes de comportamento animal foram realizados.

Preparação do hormônio e da emulsão de óleo, bem como a sua aplicação

[0189] Aplicação de emulsões e coleta de sangue

[0190] As emulsões, conforme descritas na Tabela 4, foram aplicadas por meio de um cateter da veia jugular permanente 1 e 12 h após o início da tMCAO.

[0191] Para a amostragem do sangue venoso e aplicação das emulsões, a veia jugular externa direita foi exteriorizada através da preparação de todos os tecidos conjuntivos e fáscia na região ventral do pescoço.

[0192] Depois de uma pequena incisão na veia, a ponta do cateter da jugular (Alzet, cateter da jugular de rato, Cupertino, CA, EUA) foi introduzida cerca de 1-1,5 mm distalmente. A veia foi ligada permanentemente dois mm rostral e frouxamente distal próxima da incisão ao longo do cateter. O cateter permaneceu na sua posição até ao final da experiência (24 horas após o sacrifício).

[0193] Todas as injeções foram administradas em um volume de 500 µl lentamente durante 3 minutos utilizando um sistema de micro bomba (Aesculap, Alemanha). Para evitar a coagulação da ponta dos cateteres no interior da veia jugular, o tubo foi inundado com heparina altamente diluída (1:1000 em NaCl fisiológico).

[0194] Todas as soluções utilizadas foram aquecidas à temperatura corporal (38 ° C) antes da aplicação.

[0195] Os hormônios (17 β -estradiol e progesterona) foram preparados dissolvidos em etanol a 100% como soluções de estoque e em seguida diluídos em emulsões fornecidas (Exemplos 1 a 3).

[0196] A dosagem de esteroides por aplicação resultante foi:

Progesterona (P, Sigma-Aldrich, Alemanha) de 10 mg/kg de peso corporal

17 β -Estradiol (E, Sigma-Aldrich, Alemanha) 25 μ g/kg de peso corporal

[0197] As emulsões com ou sem hormônios foram aplicadas 1 h e 12 h após o início da tMCAO.

[0198] Adicionalmente às emulsões, um hormônio livre de lipídio contendo a solução de cloreto de sódio/etanol foi preparado (NaCl/EtOH E/P). Mais uma vez, uma solução de estoque foi preparada por dissolução dos hormônios em etanol. A diluição adicional da solução estoque em soro fisiológico (NaCl) resultou no mesmo volume de aplicação (500 μ l) e um regime de dosagem como indicado acima para as emulsões.

Avaliação do fluxo sanguíneo cerebral regional (rCBF)

[0199] Para garantir uma oclusão da MCA adequada, uma fluxometria Laser-Doppler (LDF) para medir a perfusão cerebral regional sobre a MCA durante a isquemia cerebral focal foi usada.

[0200] Por conseguinte, cada animal foi submetido a craniotomia para a colocação de um laser-Dopplerprobe de 2 mm

(Sistema PeriFlux 5000, Tipo PF 5001, Perimed, Suécia) sobre a dura-máter intacta em cerca de 3-5 mm posterior ao bregma e 4 mm lateral à linha média. As medições da linha de base foram tomadas imediatamente antes da inserção do cateter na ICA. A rCBF sobre a MCA foi gravada em intervalos de 10 minutos e a média foi calculada. Apenas os animais com uma redução da rCBF por pelo menos 50% (valor médio) em relação à linha de base foram ainda incluídos no estudo. Os outros animais foram excluídos do estudo, uma vez que não nenhum subfornecimento/infarto de oxigênio apropriado poderia ser garantido.

Análise dos animais

[0201] Geralmente, todas as análises foram efetuadas de um modo cego único. Neste contexto, cego único significa que o primeiro pesquisador que realizou a preparação das emulsões aplicadas, a cirurgia tMCAO, e a aplicação de todas as emulsões estava ciente das drogas testadas. Esta pessoa, então, codificou os animais com números. O segundo experimentador que tratou testes comportamentais, análise da análise de volume sistólico foi completamente cego e apenas os animais tratados rotulados com um número codificado. Esta pessoa então fez a análise e as avaliações matemáticas/estatísticas e retornou o conjunto de dados para o primeiro experimentador que estava atribuindo os dados para os animais/tratamentos correspondentes.

Medição do volume de infarto

[0202] Os dados de volume de infarto são expressos como variações percentuais em comparação com o volume total do infarto em animais da tMCAO desprotegidos que foi sempre definido como

100%. Isto permite uma melhor comparação entre os níveis de proteção em um relance.

[0203] Para a avaliação exata do volume de infarto, o método de coloração com cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) de foi aplicado. Os cérebros foram rapidamente dissecados para fora e cortados em cortes coronais de 2 mm de espessura usando uma matriz de cérebro de rato (Alto Brain Matrix stainless steel 1 mm rat coronal 300-600 GM, Havard-Apparatus). As seções foram então incubadas em uma solução de TTC a 2% (preparada em solução salina) a 37° C durante 15 min. Os tecidos vivos adquirem coloração vermelha, enquanto que o tecido infartado não adquire coloração e permanece pálido. Após a coloração com TCC, as seções foram crio-preservadas. As imagens das seções coradas por TTC foram adquiridas com uma câmera Canon Digital IXUS 9015. O volume total de infarto cortical foi calculado somando a área média de cada seção e multiplicado por 2 mm (espessura das seções). A correção de edema do volume de infarto foi feita usando a equação de correção de volume (volume de infarto cortical x todo o volume contralateral)/todo o volume ipsilateral. O volume do edema foi calculado subtraindo o volume do ipsilateral lesionado do hemisfério contralateral (Garcia et al. *Stroke* 26:627-634, 1995). As medições foram realizadas utilizando um dispositivo de software livre acessível (ImageJ 1,41, EUA).

Teste comportamental

[0204] Resumidamente, antes da escarificação de animais, os testes comportamentais (Garcia Neuroscoring) foram realizados com todos os ratos incluídos no estudo de acordo com Garcia et al. (*Stroke* 26:627-634, 1995) com pequenas modificações. Seis

testes comportamentais independentes que foram marcados de 1-3 resultando em um máximo de 18 contagens foram realizados. Os seguintes comportamentos foram avaliados: atividade espontânea, esticamento da pata dianteira e capacidade de subir, a propriocepção corporal com vara contusa, propriocepção corporal (toques nas vibrissas), caminhada espontânea. Normalmente, os animais intactos ou falso-operados marcaram sempre 18 P. Por outro lado, os animais da tMCAO marcaram em média aprox. 6 P.

[0205] Os resultados dos testes com o modelo de acidente vascular cerebral estão refletidos nas Figuras 1 e 2.

[0206] Nas figuras as seguintes abreviaturas foram utilizadas:

NaCl/EtOH E/P i.v.: Solução de cloreto de sódio/etanol contendo hormônio como descrito acima que é administrado por via intravenosa

Lipofundin MCT E/P i.v.: Emulsão de acordo com o Exemplo 1 na Tabela 4 com hormônios adicionados conforme descrito acima e administrada intravenosamente

5/5 emulsão i.v.: Emulsão de acordo com o Exemplo 2 sem hormônios e administrada por via intravenosa

5:5 emulsão E/P i.v.: Emulsão de acordo com o Exemplo 2 na Tabela 4 com hormônios adicionados como descrito acima e administrada intravenosamente

9:1 emulsão i.v.: Emulsão de acordo com o Exemplo 3 sem hormônios e administrada por via intravenosa

9:1 emulsão E/P i.v.: Emulsão de acordo com o Exemplo 3 na Tabela 4 com hormônios adicionados e administrada intravenosamente.

[0207] A Figura 1 demonstra o efeito do tratamento sobre o volume do volume de infarto do córtex cerebral.

[0208] A Figura 2 demonstra o efeito do tratamento sobre a pontuação comportamental.

[0209] Como pode ser visto a partir dos resultados, o uso de emulsões de óleo de peixe rico em ácidos graxos ômega-3 (Exemplos 2 e 3) em conjunto com os hormônios progestogênio e estrogênio demonstra um efeito sinérgico melhorado e inesperado.

REIVINDICAÇÕES

1. Emulsão de óleo-em-água contendo hormônio para administração parenteral **caracterizada por** compreender:

a) progestogênio e estrogênio e

b) 100 a 300 g/L, com base na emulsão de óleo-em-água, de um componente de óleo que compreende:

i) pelo menos 50% em peso de triglicerídeos de óleo de peixe, sendo que o triglycerídeo de óleo de peixe consiste em glicerol que é esterificado com ácidos graxos, sendo que os referidos ácidos graxos incluem o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) em uma quantidade de pelo menos 45% em peso dos referidos ácidos graxos e em que a quantidade de triglicerídeos de óleo de peixe é com base na quantidade total do componente de óleo; e

ii) triglicerídeos de cadeia média (MCT).

2. Emulsão de óleo-em-água contendo hormônio, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por** os triglicerídeos de óleo de peixe estarem presentes em uma quantidade de pelo menos 75% em peso e particularmente pelo menos 85% em peso, cada um com base no peso total do componente de óleo.

3. Emulsão de óleo-em-água contendo hormônio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 e 2, **caracterizada por** a emulsão compreender triglicerídeos de cadeia média em uma quantidade que varia de 10 a 45 % em peso, cada um com base no peso total do componente de óleo.

4. Emulsão de óleo-em-água contendo hormônio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizada por** a emulsão compreender progestogênio e estrogênio, de preferência em uma proporção em peso de 5:1 a 50:1.

5. Emulsão de óleo-em-água contendo hormônio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizada por** a emulsão compreender triglicerídeos de óleo de peixe e triglicerídeos de cadeia média em uma proporção de peso variando de 1:1 a 9:1.

6. Emulsão de óleo-em-água contendo hormônio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizada por** a emulsão compreender estradiol e progesterona.

7. Emulsão de óleo-em-água contendo hormônio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, **caracterizada por** a emulsão compreender progesterona em uma quantidade que varia de 0,15 a 2,5 g/l e a emulsão compreender estradiol em uma quantidade que varia de 0,015 g/l a 1,5 g/l.

8. Emulsão de óleo-em-água contendo hormônio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, **caracterizada por** o triglicerídeo de óleo de peixe consistir em glicerol que é esterificado com ácidos graxos, sendo que a quantidade total de ácidos graxos ômega-3 é de pelo menos 50% em peso, preferencialmente pelo menos 55% em peso, mais preferencialmente pelo menos 60% em peso e mais preferencialmente pelo menos 65% em peso, com base na quantidade total de ácidos graxos esterificados.

9. Emulsão de óleo-em-água contendo hormônio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizada por** a emulsão compreender um agente emulsificante selecionado a partir do grupo que consiste em lecitina de ovo, lecitina de soja, fosfolipídios derivados de crustáceos marinhos e suas misturas.

10. Emulsão de óleo-em-água contendo hormônio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizada por** a emulsão compreender fosfolipídios que compreendem moléculas de ácidos graxos ômega-3, preferencialmente fosfolipídios obtidos a partir de krill (*Euphausiacea*).

11. Emulsão de óleo-em-água contendo hormônio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, **caracterizada por** compreender

a) progesterona em uma quantidade na faixa de 1,0 a 2,0 g/l e estradiol em uma quantidade na faixa de 0,05 g/l para 1,0 g/l;

b) 100 a 300 g/l, com base na emulsão de óleo-em-água, de um componente de óleo que compreende

i) pelo menos 50% em peso de triglicerídeos de óleo de peixe, sendo que o triglycerídeo de óleo de peixe consiste em glicerol que é esterificado com ácidos graxos, sendo que os referidos ácidos graxos incluem o ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) em uma quantidade de pelo menos 45% em peso dos referidos ácidos graxos e de preferência a quantidade total de ácidos graxos ômega-3 é de pelo menos 50% em peso dos referidos ácidos graxos; e

- ii) 10 a 50% em peso de MCT, com base no peso total do componente de óleo;
- c) 4 a 20 g/l de um fosfolipídio e
- d) 10 a 50 g/l de glicerol.

12. Composição farmacêutica **caracterizada por** compreender a emulsão de óleo-em-água conforme definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 11 e um ou mais aditivos farmaceuticamente aceitáveis.

13. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizada por** ser para utilização no tratamento ou profilaxia de danos neurológicos após acidentes vasculares cerebrais e/ou traumas.

14. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizada por** ser para utilização no tratamento ou profilaxia de danos neurológicos após concussão ou para uso no tratamento ou profilaxia de eventos traumáticos.

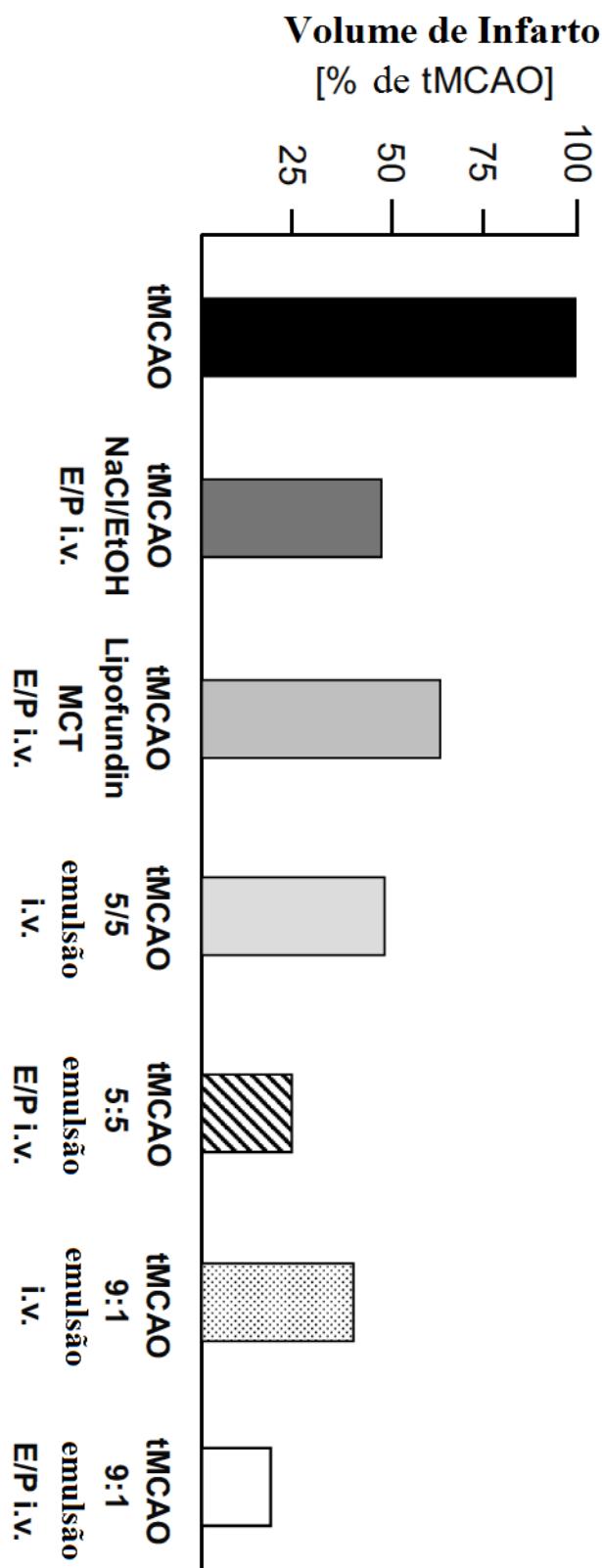
FIGURA 1

FIGURA 2