



(I P) INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
PORTUGAL

(11) *Número de Publicação:* PT 92940 B

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)

A61K031/565 A

A61K009/02 B

A61K047/18 B

(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) *Data de depósito:* 1990.01.23

(30) *Prioridade:* 1989.01.23 JP 64/14528

(43) *Data de publicação do pedido:*
1990.07.31

(45) *Data e BPI da concessão:*
08/95 1995.08.24

(73) *Titular(es):*

KANEBO, LTD.

NO. 17-4, SUMIDA 5-CHOME SUMIDA-KU,
TOKYO-TO

JP

(72) *Inventor(es):*

MINORU SAKAGUCHI

JP

NORIO AWATA

JP

TSUNEO KAWASHIMA

JP

HIROSHI NAKAGAWA

JP

(74) *Mandatário(s):*

ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA
RUA DAS FLORES 74 4/AND. 1294 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM SUPOSITÓRIO VAGINAL À BASE DE UM SAL SULFATO DE DESIDROEPIANDROSTERONA

(57) *Resumo:*

[Fig.]

70 472
FP190-26



PATENTE Nº. 92 940

"Processo de preparação de um supositório vaginal à base de um sal sulfato de desidroepiandrosterona"

para que

KANEBO, LTD., pretende obter privilégio de invenção em Portugal.

R E S U M O

O presente invento refere-se ao processo de preparação de supositórios vaginais, caracterizado por se fundir 1 a 20 partes em peso de uma gordura sólida com um valor de hidroxilo de não mais do que 50, sob aquecimento, misturar 1 parte em peso de um sal farmacêuticamente aceitável de sulfato de desidroepiandrosterona e 0,3 a 3 partes em peso de um aminoácido, com a gordura sólida fundida, verter a mistura sobre um molde e arrefece-la.

Este supositório apresenta uma melhor absorção da droga activa pela vagina e também uma longa vida em prateleira.

MEMÓRIA DESCRITIVA

ANTECEDENTES DO INVENTO

Âmbito do Invento

O presente invento refere-se ao processo de preparação de supositórios vaginais. Mais particularmente, o invento refere-se ao processo de preparação de um supositório vaginal compreendendo um sal farmacêuticamente aceitável de sulfato de desidroepiandrosterona (aqui depois designado por DHAS), um aminoácido e uma gordura pesada com um valor de hidroxilo de não mais do que 50.

Breve descrição da arte anterior

É conhecido que alguns sais farmacêuticamente aceitáveis de DHAS aumentam a maturação cervical na etapa terminal da gravidez e potenciam a sensibilidade à oxitocina do músculo uterino, e, clinicamente, têm-se usado frequentemente injecções clínicas contendo o sal de sódio de DHAS como uma droga que melhora o estado preparatório do útero para o parto.

Entretando, na Patente dos E.U.A. nº. 4 789 669, descreve-se como forma de dosagem conveniente, um supositório vaginal compreendendo um sal farmacêuticamente aceitável de DHAS e uma gordura pesada com um valor de hidroxilo de não mais do que 50, com um melhor tempo de vida em prateleira.

Os inventores do presente invento fizeram uma pesquisa assidua para melhorar a absorção do DHAS administrado vaginalmente, com a devida diligência, e consumaram o presente invento.

Sumário do Invento

Deste modo um objectivo do invento consiste em proporcionar um supositório vaginal que assegure uma absorção eficiente do DHAS.

Outros objectivos e vantagens do invento tornar-se-ão evidentes com o decorrer da descrição do invento.

A constatação que culminou no presente invento é a de que a adição de um certo aminoácido a uma composição básica de supositório compreendendo um sal farmacologicamente aceitável de DHAS e uma gordura pesada com um valor de hidroxilo de não mais do que 50, resulta numa absorção sistêmica de DHAS melhorada e num aumento do tempo da vida do supositório em prateleira.

Descrição das concretizações preferidas

Exemplos de sais farmacologicamente aceitáveis de DHAS que são utilizados no invento, são os sais de metal correspondentes, tais como os sais de sódio, potássio, lítio, magnésio, etc., bem como o sal de amônio.

Exemplos do aminoácido a ser usado incluem alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, cistina, glutamina, ácido glutâmico, glicina, histidina, hidroxilisina, hidroxiprolina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina, etc.. A glicina e a L-arginina são particularmente preferidos. Estes aminoácidos podem estar na configuração D ou L ou na forma DL. Para os propósitos do invento, opcionalmente, podem-se usar dois ou mais destes aminoácidos em combinação.

A base do supositório que se usa no presente invento é uma gordura pesada com um valor de hidroxilo não excedendo 50. O termo "gordura pesada" designa uma mistura de glicéridos cujos ácidos gordos constituintes são ácidos gordos saturados de cadeia linear com 8 a 18 átomos de carbono, e exemplos destas gorduras pesadas estão descritos em Martindale The Extra Pharmacopeia, 28ª. ed., p. 1067, Londres, The Pharmaceutical Press, 1982) e em "Standards for Ingredients of Drugs not in the Japanese Pharmacopeia" (Editado pelo Serviço dos Assuntos Farmacêuticos do Ministério da Saúde e da Segurança Social do Japão, p. 1239, 1 de Outubro de 1986, Yakugyo Jiho Co., Ltd., Tóquio, Japão). No presente invento, usa-se uma gordura pesada com um valor de hidroxilo de não mais do que 50. Estas gorduras com valores de hidroxilo não excedendo 50, estão disponíveis a partir de fontes comerciais, por exemplo com as marcas de Witepsol^(R) H-5,



70 472
FP190-26

-4-

Witepsol^(R) H-15 e Witepsol^(R) H-35 (todas da Dynamit Nobel Co.) e Nissan^(R) Pharmasol B-115 (Nippon Oil & Fats Co., Ltd.).

O supositório vaginal de acordo com o presente invento é preparado fundindo uma gordura pesada com um valor de hidroxilo de não mais do que 50, sob aquecimento, adicionando um sal farmaceuticamente aceitável de DHAS, misturando-os uniformemente, vertendo a composição sobre moldes de supositórios em quantidades uniformes predeterminadas e arrefecendo-os.

A proporção do referido aminoácido com base em cada parte, em peso, do sal farmaceuticamente aceitável de DHAS, é, geralmente, de 0,2 a 3 partes, em peso, e preferencialmente, de 0,25 a 2 partes, em peso. O aminoácido é preferencialmente usado na forma de pó finamente dividido com um diâmetro médio das partículas na gama de 5 a 25 μ .

A proporção da referida gordura pesada com um valor de hidroxilo de não mais do que 50, baseada em cada parte, em peso, do sal farmaceuticamente aceitável de DHAS, é, geralmente, de 1 a 20 partes, em peso, e, preferivelmente, de 3 a 10 partes, em peso.

O supositório vaginal preparado de acordo com o presente invento é administrado a mulheres grávidas com 37 a 39 semanas de gravidez, geralmente, 1 a 3 vezes por dia, sendo a dose unitária de 100 a 1500 mg do sal farmaceuticamente aceitável de DHAS.

O supositório vaginal do invento é superior, na absorção de DHAS, ao supositório vaginal comparável, sem aminoácido, como se mostra no Exemplo de Teste 1 que a seguir se apresenta. Adicionalmente, o supositório vaginal do invento tem um melhor tempo de vida na prateleira como se demonstra no Exemplo de Teste 2 que também aqui a seguir se apresenta.

Os exemplos de teste seguintes são ilustrativos da utilidade do supositório vaginal do invento.

Exemplo de Teste 1 - teste de absorção

1. Materiais de teste

Os supositórios vaginais que a seguir se mencionam foram preparados de acordo com as mesmas fórmulas que são apresentadas nos Exemplos 1 a 6 e no Exemplo de Controlo 1, que aqui depois se descrevem, pelo procedimento aí apresentado, com a excepção de terem sido moldados em formas de dosagem cilíndricas de 1,6 mm (diâmetro) para administração em ratas.

- Supositório vaginal A (de acordo com a fórmula do Exemplo 1)
- Supositório vaginal B (de acordo com a fórmula do Exemplo 2)
- Supositório vaginal C (de acordo com a fórmula do Exemplo 3)
- Supositório vaginal D (de acordo com a fórmula do Exemplo 4)
- Supositório vaginal E (de acordo com a fórmula do Exemplo 5)
- Supositório vaginal F (de acordo com a fórmula do Exemplo 6)
- Supositório vaginal de controlo X (de acordo com a fórmula do Exemplo de Controlo 1)

2. Animais de Teste

Usaram-se ratas Wister fêmeas na etapa terminal da gravidez (de peso médio 220 g, primeira gravidez, 13 semanas de idade) em grupos de 3 a 4 animais.

3. Método

Administrou-se cada material de teste numa quantidade equivalente a 4 mg de DHAS de sódio por kg de peso, na vagina de ratas fêmeas, em jejum durante 16 horas, e a abertura vaginal foi fechada com um adesivo de cianoacrilato (Aron Alpha^(R), Toagosei Chemical Industry Co., Ltd) para evitar a expulsão da droga. As ratas foram alimentadas 4 horas após a administração. Imediatamente antes da administração, e 1, 2, 3, 4, 6 e 8 horas após a administração, colheram-se amostras de sangue através de uma cânula inserida na veia jugular, que foi heparinizada e centrifugada a 10000 rpm durante 5 minutos para separar o plasma. O DHAS em cada amostra de plasma foi analisado

com um conjunto de radioimunoensaio para o DHAS (Teste de sulfato de ^{125}I -DHEA, Wien Laboratories, Inc.) de acordo com o procedimento apresentado no catálogo (catálogo nº. DS3300) e de acordo com o manual de instruções que acompanha o conjunto de ensaio. Depois, a partir dos dados da concentração de DHAS no plasma, para os tempos de amostragem de sangue respectivos, determinou-se a concentração máxima no plasma (C_{max}) e a área sob a curva concentração no plasma-tempo ($\text{AUC}_{0-8\text{h}}$).

4. Resultados

Os valores médios em cada grupo de tratamento são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1

Amostra teste		Aminoácido		C_{max}	$\text{AUC}_{0-8\text{h}}$
				* ($\mu\text{g}/\text{ml}$)($\mu\text{g.h}/\text{ml}$)	
		Tipo	Quantidade		
O invento	supositório vaginal A	Glicina	0,25	0,25	1,29
	supositório vaginal B	Glicina	0,5	0,42	2,01
	supositório vaginal C	Glicina	2,0	1,03	4,26
	supositório vaginal D	DL-alanina	0,5	0,26	1,45
	supositório vaginal E	L-arginina	0,5	0,44	2,07
	supositório vaginal F	L-ácido aspártico	0,5	0,34	1,64
Supositório vaginal controle X		Não adicionado		0,20	1,09

* relação em peso com o DHAS de sódio

Assim, os supositórios vaginais contendo vários aminoácidos de acordo com o invento, são superiores, na absorção do DHAS pela

vagina, ao supositório vaginal de controlo sem aminoácido.

Exemplo de Teste 2 - Teste de estabilidade na armazenagem

1. Material de teste

Supositórios vaginais de acordo com os Exemplos 1 a 6.

2. Método

O teste de estabilidade foi conduzido sob condições de envelhecimento acelerado. Assim, dez amostras de cada material de teste, imediatamente após a preparação, foram mantidas, à temperatura constante de 50°C e durante um mês, e examinou-se depois a aparência de cada amostra e calculou-se o peso médio (W_A) das amostras de teste. Depois para avaliar a estabilidade na armazenagem de cada material de teste, determinaram-se o DHAS de sódio e o seu produto de degradação, a desidroepiandrosterona (abreviadamente DHA) em cada material de teste, por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Determinação de DHAS de sódio e de DHA

Colheram-se três amostras de cada material de teste, pulverizaram-se e misturaram-se, e pesaram-se com precisão cerca de 0,8 g (esta quantidade é designada por W_T). Adicionaram-se 20 ml de metanol e 5 ml de solução de referência interna (uma solução de p-hidroxibenzoato de butilo em metanol, 0,8 mg/ml) e aqueceu-se a mistura a 50°C e agitou-se para dissolver o material. Arrefeceu-se a solução até à temperatura ambiente, centrifugou-se a 3000 rpm durante 5 minutos, e tomou-se o sobrenadante para uso como solução de amostra. Por outro lado, pesaram-se com precisão cerca de 0,1 g de di-hidrato sódico de DHAS (o equivalente a esta quantidade como DHAS de sódio anidro foi designado por W_S). Similarmente, pesaram-se com precisão cerca de 0,02 g de DHA (esta quantidade foi designada por W_D). Esta quantidade de DHA e o di-hidrato sódico de DHAS pesado anteriormente, foram dissolvidos em metanol (20 ml) - solução de referência interna (5 ml) para preparar uma solução padrão contendo DHAS de sódio e DHA (posteriormente designada por solução padrão DHAS-DHA). Depois, injectaram-se,

70 472
FP190-26

-8-

respectivamente, 5 µl da solução amostra e 5 µl de solução padrão DHAS-DHA num equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência:

Características da HPLC

Aparelhagem : equipamento de cromatografia líquida Shimadzu LC-5A (Shimadzu)

Detector : espectrofotômetro de UV (comprimento de onda de medição, 214 nm)

Coluna : 4,6 mm (diâmetro interno) x 150 mm (comprimento), tapada com sílica gel ligada a octadecilo (5 µ) (Inertsil^(R) DDS, Gasukuro Kogyo Inc.)

Temperatura da
coluna : temperatura ambiente

Fase móvel : metanol:sulfato de amônio 0,02 M (68:32)

Caudal da fase
móvel : 1,0 ml/minuto.

A relação entre a área do pico (Q_S) da solução de DHAS de sódio e a da referência interna (p-hidroxibenzoato de butilo), após a injeção da solução padrão DHAS-DHA, e a relação entre a área do pico (Q_T) do DHAS de sódio e a da referência interna (p-hidroxibenzoato de butilo), após a injeção da solução amostra, foram respectivamente determinadas, e o teor em DHAS de sódio (C) por material de teste foi calculado pela equação seguinte:

$$C = W_S \times \frac{Q_T}{Q_S} \times \frac{W_A}{W_T}$$

A partir deste valor de (C) e do teor em DHAS de sódio (C_i) da amostra de teste, determinado imediatamente após a preparação da mesma maneira que anteriormente, calculou-se a percentagem de residuo de DHAS de sódio depois da armazenagem, pela equação que a seguir se apresenta e, depois, calculou-se o valor médio para cada material de teste.

$$\% \text{ Resíduo} = \frac{C}{C_i} \times 100$$

Deve-se entender que, no procedimento de ensaio anterior, o DHA é detectado quando presente numa quantidade superior a 0,4 mg por supositório. Realmente, não se detectou DHA em nenhum dos supositórios de teste.

2. Resultados

Na Tabela 2 apresentam-se os resultados do teste.

Tabela 2

Amostra de teste	Aminoácido		Após 1 mês de armazenagem		
	Tipo	Quan- tida- de	Aparên- cia	% resi- dual de DHAS	DHA
Supositório va- ginal do Exem- plo 1	Glicina	0,25	branco	98,9	N.D.**
Supositório va- ginal do Exem- plo 2	Glicina	0,5	branco	98,4	N.D.**
Supositório va- ginal do Exem- plo 3	Glicina	2,0	branco	97,9	N.D.**
Supositório va- ginal do Exem- plo 4	DL-alanina	0,5	branco	100,1	N.D.**
Supositório va- ginal do Exem- plo 5	L-arginina	0,5	branco	99,2	N.D.**
Supositório va- ginal do Exem- plo 6	L-ácido aspártico	0,5	branco	102,9	N.D.**

70 472
FP190-26

-10-

- * Razão em peso dos aminoácidos em relação ao DHAS de sódio
- ** Não detectado

Os supositórios vaginais de acordo com o invento mostram uma estabilidade na armazenagem muito satisfatória.

Exemplos

Exemplo 1

Carregou-se um recipiente de aço inoxidável com 266,3 g de gordura pesada (Witepsol^(R) H-15, Dynamit Nobel Co.) e aqueceu-se a 40-42°C para derreter a gordura. Depois, adicionaram-se 43,7 g de DHAS de sódio di-hidratado (tamanho médio de partícula, 6 μ) e 10,0 g de glicina (tamanho médio de partícula 14 μ) e agitou-se de modo a obter-se uma composição homogênea. Verteu-se esta composição, mantida a 37-38°C, em moldes fusiformes em porções de 1,6 g, obtendo-se supositórios vaginais contendo 200 mg de DHAS de sódio e 50 mg de glicina por unidade.

Exemplo 2

Carregou-se um recipiente de aço inoxidável com 256,3 g de gordura pesada (Witepsol^(R) H-15, Dynamit Nobel Co.) e aqueceu-se a 40-42°C para derreter a gordura. Depois, adicionaram-se 43,7 g de DHAS de sódio di-hidratado (tamanho médio de partícula, 6 μ) e 20,0 g de glicina (tamanho médio de partícula 14 μ) e agitou-se de modo a obter-se uma composição homogênea. Verteu-se esta composição, mantida a 37-38°C, em moldes fusiformes, em porções de 1,6 g e arrefeceram-se obtendo-se supositórios vaginais contendo 200 mg de DHAS de sódio e 100 mg de glicina por unidade.

Exemplo 3

Repetiu-se o procedimento do Exemplo 1 com a exceção de as quantidades de gordura pesada (Witepsol^(R) H-15, Dynamit Nobel Co.) e de glicina terem sido, respectivamente, 196,3 g e 80,0 g. Por este procedimento obtiveram-se supositórios vaginais contendo 200 mg de DHAS de sódio e 400 mg de glicina por unidade.

Exemplos 4 a 6

Repetiu-se o procedimento do Exemplo 2 com a exceção de se ter usado DL-alanina (tamanho médio de partícula 22 μ), L-arginina (tamanho médio de partícula 9 μ) ou ácido L-aspartico (tamanho médio de partícula 18 μ) em vez de glicina. Por este procedimento obtiveram-se supositórios vaginais contendo 200 mg de DHAS de sódio e 100 mg de DL-alanina por unidade (Exemplo 4), supositórios vaginais contendo 200 mg de DHAS de sódio e 100 mg de L-arginina por unidade (Exemplo 5) ou supositórios vaginais contendo 200 mg de DHAS de sódio e 100 mg de ácido L-aspartico por unidade (Exemplo 6).

Exemplo Controle 1

Carregou-se um recipiente de aço inoxidável com 276,3 g de gordura pesada (Witepsol^(R) H-15, Dynamit Nobel Co.) e aqueceu-se a 40-42°C para derreter a gordura. Depois, adicionaram-se , 43,7 g de DHAS de sódio di-hidratado (tamanho médio de partícula 6 μ) e agitou-se, obtendo-se uma composição homogênea. Verteu-se esta composição, mantida a 37-38°C em moldes fusiformes e arrefeceram-se, obtendo-se supositórios vaginais contendo 200 mg de DHAS de sódio por unidade.

R E I V I N D I C A Ç Õ E S

1 - Processo de preparação de supositórios vaginais, caracterizado por se fundir 1 a 20 partes em peso de uma gordura sólida com um valor de hidroxilo de não mais do que 50, sob aquecimento, misturar 1 parte em peso de um sal farmacêuticamente aceitável de sulfato de desidroepiandrosterona e 0,3 a 3 partes em peso de um aminoácido, com a gordura sólida fundida, verter a mistura sobre um molde e arrefecê-la.

2 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o referido aminoácido ser pelo menos um membro selecionado entre o grupo constituído por alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, cistina, glutamina, ácido glutâmico, glicina, histidina, hidroxilisina, hidroxiprolina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, ornitina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina e outros.

3 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o referido aminoácido ser glicina ou L-arginina ou uma sua mistura.

4 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o referido sal farmacêuticamente aceitável de sulfato de desidroepiandrosterona ser o sal de sódio.

5 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o referido sal farmacêuticamente aceitável de sulfato de desidroepiandrosterona ser um pó cristalino com um diâmetro de partícula médio de 3 a 20 μm .

6 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o referido supositório vaginal conter de 100 a 1500 mg de um sal farmacêuticamente aceitável de sulfato de desidroepiandrosterona como dose unitária.

7 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o referido sal farmacêuticamente aceitável de sulfato de desidroepiandrosterona ser o sal de sódio na forma de um pó cristalino com um diâmetro de partícula médio de 3 a 20 μm , contendo o referido supositório vaginal 100 a 1500 mg de sal de

70 472
FP190-26

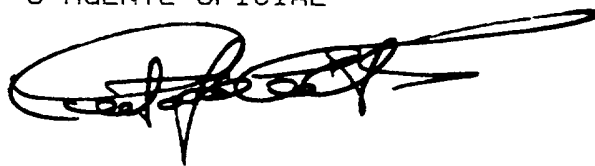
-13-

sódio de sulfato de desidroepiandrosterona, e por o referido aminoácido ser glicina ou L-arginina ou uma sua mistura.

Lisboa, 23. JAN. 1950

Por KANEBO, LTD.

- O AGENTE OFICIAL -

A handwritten signature in black ink, appearing to be a stylized name, possibly "Kanebo", written over a horizontal line.