

(11) Número de Publicação: **PT 1888077 E**

(51) Classificação Internacional:

**A61K 31/519** (2007.10) **A61K 31/135** (2007.10)

**A61K 31/7028** (2007.10) **A61K 31/00**

(2007.10)

**A61K 31/565** (2007.10) **A61K 31/57** (2007.10)

**A61K 31/525** (2007.10) **A61K 31/4415**

(2007.10)

**A61P 15/18** (2007.10) **A61P 15/12** (2007.10)

**A61K 31/585** (2007.10)

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2006.05.15**

(30) Prioridade(s): **2005.05.13 DE**  
**102005023301 2006.04.03 DE**  
**102006016285**

(43) Data de publicação do pedido: **2008.02.20**

(45) Data e BPI da concessão: **2009.04.29**  
**138/2009**

(73) Titular(es):

**MERCK EPROVA AG**  
**IM LATERNENACKER 5 8200 SCHAFFHAUSEN**  
**CH**  
**BAYER SCHERING PHARMA AG**  
**DE**

(72) Inventor(es):

**RUDOLF MOSER**  
**CH**  
**KAI STROTHMANN**  
**DE**  
**GAVIN WELCH SMITH**  
**DE**  
**KRISTINA KING**  
**DE**  
**KLAUS PIETRZIK**  
**DE**

(74) Mandatário:

**MARIA SILVINA VIEIRA PEREIRA FERREIRA**  
**RUA CASTILHO, N.º 50, 5º - ANDAR 1269-163 LISBOA**  
**PT**

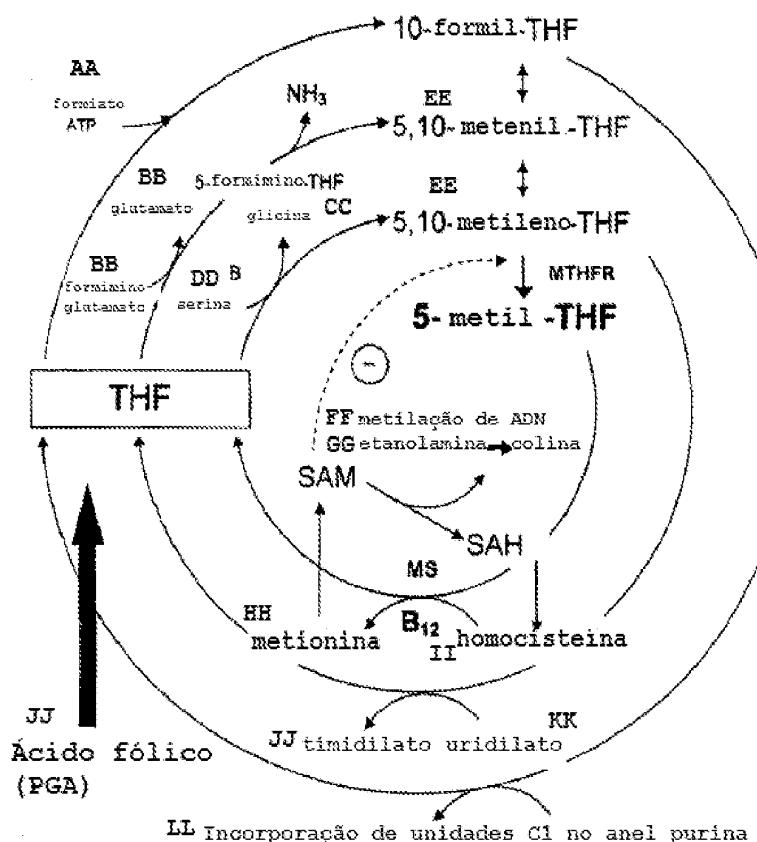
(54) Epígrafe: **COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO GESTAGÉNIOS E/OU ESTROGÉNIOS E 5-METIL-(6S)-TETRA-HIDROFOLATO**

(57) Resumo:

## RESUMO

### **"COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO GESTAGÉNIOS E/OU ESTROGÉNIOS E 5-METIL-(6S)-TETRA-HIDROFOLATO"**

A presente invenção é relativa a uma composição farmacêutica que contém gestagénios, de preferência a drospirenona, estrogénios, de preferência o etinilestradiol, e 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, a qual pode ser empregue como contraceptivo oral e prevenir patologias causadas por um défice de folato nas consumidoras, em particular doenças cardiovasculares e malformações congénitas causadas por um défice de folato, após a concepção do embrião, como, por exemplo, defeitos do tubo neural, defeitos das válvulas ventriculares, defeitos urogenitais, assim como lábio leporino, gnatosquise e fenda palatal, sem camuflar os sintomas de um défice de vitamina B<sub>12</sub>, e ao mesmo tempo também facilitar, no caso da existência de um polimorfismo homozigótico ou heterozigótico da metilenotetra-hidrofolato reductase, a possibilidade ilimitada de o organismo utilizar o componente folato 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato e, com isso, a sua actividade biológica para prevenir as malformações congénitas causadas por um défice de folato acima indicadas. Além disso, mantém-se uma acção protectora mais prolongada após a descontinuação da toma do contraceptivo.



## MM

### Metabolismo do folato

THF:	tetra-hidrofolato
MTHFR:	metilenotetra-hidrofolato reductase
MS:	metionina sintase
SAM:	S-adenosilmetionina
SAH:	S-adenosil-homocisteina

AA...	FORMIATO
BB...	GLUTAMATO
CC...	GLICINA
DD...	SERINA
EE...	METILENO
FF...	METILAÇÃO DE ADN
GG...	ETANOLAMINA ->COLINA
HH...	METIONINA
II...	HOMOCISTEÍNA
JJ...	TIMIDILATO
KK...	URIDILATO
LL...	INCORPORAR UNIDADES C <sub>1</sub> NO ANEL PURINA
MM...	METABOLISMO DO FOLATO
THF...	TETRA-HIDROFOLATO
MTHFR...	METILENOTETRA-HIDROFOLATO REDUCTASE
MS...	METIONINA SINTASE
SAM...	S-ADENOSILMETIONINA
SAH...	S-ADENOSIL-HOMOCISTEÍNA

### DESCRIÇÃO

#### **"COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO GESTAGÉNIOS E/OU ESTROGÉNIOS E 5-METIL-(6S)-TETRA-HIDROFOLATO"**

A presente invenção é relativa a uma composição farmacêutica que contém gestagénios, estrogénios e 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, a qual pode ser empregue como contraceptivo oral e prevenir, com isso, doenças e malformações causadas por um défice de folato, sem nesse processo camuflar os sintomas de uma falta de vitamina B<sub>12</sub>.

As empresas farmacêuticas com actividade na área do controlo da fertilidade tentam sempre melhorar os contraceptivos existentes. Trata-se neste caso não só de aumentar a segurança contraceptiva pelo desenvolvimento de novas substâncias e de um melhor conforto de aplicação. Em vez, procura-se também preparações inovadoras para combinar a contracepção com a prevenção de doenças.

Considera-se que uma série de doenças tem relação com a falta de folato. Assim, a administração de folatos, por exemplo na forma de ácido fólico, pode minimizar o risco de doenças cardiovasculares e de certas doenças malignas (como, por exemplo, o carcinoma da mama e o carcinoma do cólon).

Os problemas no desenvolvimento dos nascituros são consequências particularmente graves de um défice de folato nas mulheres em idade fértil. As mulheres com níveis baixos de folato correm, em relação às com níveis suficientemente altos de folato, um maior risco de ter filhos que sofram de malformações congénitas, tais como defeitos do tubo neural,

defeitos das válvulas ventriculares e defeitos urogenitais.

Os defeitos do tubo neural são as malformações congénitas mais frequentes do sistema nervoso central. Aparecem devido a um fecho incompleto do tubo neural aproximadamente na terceira a quarta semana do desenvolvimento embrionário. Os defeitos do tubo neural pertencem a espinha bífida (em certa medida com meningocele ou mielomeningocele), a encefalocele ou anencefalias, que se caracterizam pela falta parcial ou total de zonas do cérebro. As crianças com anencefalia não têm praticamente quaisquer hipóteses de sobrevivência.

A espinha bífida distingue-se por um fecho incompleto do arco vertebral. Consoante o tipo de lesão, leva a deficiências para toda a vida na forma de diferentes falhas de sensibilidade mas também de falhas motoras - por exemplo, dois terços das crianças e dos adultos dependem de cadeira de rodas devido a paralisias musculares. Uma terapia consiste na cobertura do defeito, na colocação de um *shunt* (derivação) para drenar o líquido céfalo-raquidiano, e em reabilitação ortopédica e neurológica a longo prazo. Os custos com o tratamento médico são em média de 500 000 € por criança.

Por ano, cerca de 250 000 recém-nascidos a nível mundial apresentam defeitos no tubo neural. Na Alemanha e nos EUA, a taxa é de cerca de 1 - 2 recém-nascidos com lesão por 1 000 nascimentos. Na Alemanha, regista-se por ano cerca de 500 bebés nados-vivos com defeitos do tubo neural, em 500 outros casos de gravidez é feita uma interrupção voluntária dessa gravidez devido ao diagnóstico pré-natal com ultra-sons.

Um nível suficientemente alto de folato no momento da concepção e na primeira fase de gestação é decisivo na prevenção de defeitos do tubo neural. Dum modo geral, considera-se ser necessário um nível de folato nos eritrócitos de pelo menos 906 nmol/L para reduzir a frequência dos defeitos do tubo neural.

Sabe-se que a toma periconcepcional correcta de ácido fólico pode reduzir os defeitos do tubo neural em 50 - 70%. Nos EUA, o enriquecimento posto em prática de bens alimentares com ácido fólico reduziu já claramente a incidência de defeitos do tubo neural; no Canadá e no Chile até mesmo em mais de 50%.

No entanto, um enriquecimento facultativo de bens-alimentares, como acontece por exemplo na Alemanha, e a toma de preparados de ácido fólico não chegam em suficiente grau a todas as mulheres em idade fértil. Por um lado, muitas mulheres não têm consciência do risco de defeitos no tubo neural e da possibilidade de minimizar esse risco pela toma de ácido fólico. Por isso, em muitos países bem menos de 10% das mulheres tomam preparados de ácido fólico no período periconcepcional. Por outro lado, apesar dos métodos contraceptivos modernos e da sua aplicação cada vez mais simples, um grande número de casos de gravidez - nos EUA estima-se que até 50% (Inst. of Medicine 1998, NEJM 2004) - não é planeado, pelo que também fica *a priori* excluída uma toma deliberada de preparados de ácido fólico antes da concepção. Além disso, por exemplo nos EUA, cerca de 5 - 8% das utilizadoras não tomam os contraceptivos orais de forma fiável.

Por conseguinte, o objectivo na base da patente US 6,190,693 (Kafrissen et al.) foi o de prevenir determinadas patologias tratáveis com o ácido fólico de consumidoras de contraceptivos orais. Kafrissen atingiu este objectivo por meio da adição de ácido fólico a um contraceptivo oral. Ele revelou um método de ministrar ácido fólico recorrendo a uma composição farmacêutica, que continha tanto substâncias de acção contraceptiva correntes como também ácido fólico.

Contudo, a introdução de ácido fólico nos contraceptivos orais acarreta por si um risco sério para a saúde, visto este poder camuflar os sintomas precoces e ainda tratáveis de um défice de vitamina B<sub>12</sub>, como, por exemplo, uma anemia megaloblástica. Os sintomas hematológicos provocados por um défice de vitamina B<sub>12</sub> são tratados muitíssimo bem pela administração adicional de folato, pelo que deixa de ser possível detectar um défice de vitamina B<sub>12</sub> ou apenas poderá ser reconhecido com enorme dificuldade e, em consequência, não é feito o seu diagnóstico. Contudo, os sintomas neuropsiquiátricos, como, por exemplo, parestesia e ataxia ficam por tratar e poderão piorar de forma irreversível.

O pedido de patente WO 03/070255 (Coelingh Bennink) teve assim por objectivo impedir um risco de saúde originado pela camuflagem dos sintomas de um défice de vitamina B<sub>12</sub>, no caso de consumidoras de contraceptivos orais contendo ácido fólico. Coelingh Bennink atinge este objectivo por meio da adição de vitamina B<sub>12</sub> a um contraceptivo oral. Revela um kit para a contracepção hormonal oral contendo estrogénios e/ou gestagénios, tetra-hidrofolatos e forçosamente vitamina B<sub>12</sub>.

Outro problema na administração de preparados de ácido fólico e de tetra-hidrofolato - que não contenham 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato - é o polimorfismo, heterozigótico em cerca de 55% da população caucasiana e homozigótico em cerca de 10 - 15%, da metilenotetra-hidrofolato reductase (MTHFR C677T). Este polimorfismo leva a uma actividade reduzida da metilenotetra-hidrofolato reductase, pelo que as mulheres em questão não conseguem metabolizar o folato e o tetra-hidrofolato disponíveis em quantidade suficiente no 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato activo no organismo. Este polimorfismo é um factor de risco reconhecido de doenças relacionadas com um défice de folato, em particular defeitos do tubo neural.

Outro problema que vem agravar ainda mais a situação, trata-se do facto de o ácido fólico não ser uma substância que existe naturalmente nos alimentos. De modo a ter actividade biológica, tem primeiro de ser transformado metabolicamente pela enzima di-hidrofolato reductase no 7,8-di-hidrofolato e no (6S)-tetra-hidrofolato. A capacidade metabólica, em particular a primeira etapa de activação, para transformar a provitamina ácido fólico nas suas formas reduzidas activas, é limitada e ainda varia muito de indivíduo para indivíduo. Visto que a enzima di-hidrofolato reductase não desempenha qualquer papel no metabolismo da *metafolin*, não se prevê interacções entre medicamentos que inibam a di-hidrofolato reductase, como, por exemplo, entre o metotrexato e a di-hidrofolato reductase.

Para também dar uma quantidade suficiente de folato às mulheres que padecam de uma deficiência na metilenotetra-hidrofolato reductase, o EP 0898965 (Müller et al.) propõe

a utilização de ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico ou dos sais correspondente compatíveis a nível farmacêutico, como complemento alimentar ou como ingrediente de medicamentos. O EP 1044975 A1 revela, entre outros, sais cristalinos estáveis do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico e processos para a sua produção.

O US 2006/034954 A1 revela uma formulação farmacêutica que contém 5-metiltetra-hidrofolato, fitoestrogénios e vitamina B<sub>6</sub>.

Sabe-se que uma grande parte dos casos de gravidez ocorre pouco depois da descontinuação da toma do contraceptivo (Farrow et al., "Human Reproduction" vol. 17, n.º 10, pág. 2754 - 2761, 2002). Com a toma irregular e não fiável, a gravidez poderá mesmo acontecer durante a toma do contraceptivo. Sabe-se também que, depois do fim de uma aplicação adicional de folato, uma pessoa ainda pode usufruir dele durante cerca de mais 90 dias ("FDA Advisory Committee for Reproductive Health Drugs (ACRHD): The public health issues, including the safety and potential clinical benefit, associated with combining folic acid and an oral contraceptive into a single combination product". 15 de Dezembro de 2003; *Summary Minutes*, questão 4). No entanto, a condição para isso é a toma durante um período de tempo suficientemente longo de uma quantidade suficientemente grande de ácido fólico em complemento da alimentação normal. Este denominado efeito de deposição nos tecidos é visível por um maior nível de folato nos eritrócitos.

Além disso sabe-se que um baixo nível de folato/um elevado nível de homocisteína estão associados a abortos espontâneos múltiplos (Merlen et al., "Obstet. et Gynecol.

2000", 95: pág. 519 - 524).

A presente invenção tem por objectivo conseguir um contraceptivo oral que seja capaz de prevenir doenças originadas pela falta de folato, mas sem com isso camuflar os sintomas denunciadores de um défice de vitamina B<sub>12</sub>. Além disso, a invenção tem por objectivo revelar um regime de administração, que garanta que a consumidora da composição farmacêutica de acordo com a invenção ainda fique protegida de forma fiável de doenças ou malformações provocadas por um défice de folato, em particular de defeitos do tubo neural, passado um certo tempo depois da interrupção do consumo. Os dois aspectos também se aplicam no caso de um polimorfismo homozigótico ou heterozigótico existente da metilenotetra-hidrofolato reductase da utilizadora, que prejudica a possibilidade de utilização pelo organismo do ácido fólico e, com isso, a sua actividade biológica para prevenir defeitos do tubo neural.

Em conformidade com a invenção, o objectivo é atingido por uma composição farmacêutica contendo um ou mais gestagénios e/ou estrogénios, seleccionados do grupo dos etinilestradiol, mestranol, quinestranol, estradiol, estrona, estrano, estriol, estetrol e estrogénios equinos conjugados, e 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, opcionalmente vitamina B<sub>6</sub> e/ou vitamina B<sub>2</sub>, assim como substâncias auxiliares e substâncias de suporte compatíveis a nível farmacêutico.

A invenção tem por base o conhecimento surpreendente, relativamente ao WO 03/070255, que também são possíveis um tratamento e uma prevenção de patologias provocadas por um défice de folato sem com isso camuflar os sintomas de um

défice de vitamina B<sub>12</sub>, por meio da administração unicamente do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato. Assim sendo, deixa de ser necessária a administração da vitamina B<sub>12</sub> para prevenir os riscos de saúde descritos no WO 03/070255. Apesar da administração do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, um médico consegue diagnosticar e, se for caso disso, tratar um défice de vitamina B<sub>12</sub>.

No caso de existir um défice de vitamina B<sub>12</sub>, é naturalmente possível ministrar adicionalmente vitamina B<sub>12</sub>. A adição de outras vitaminas, como, por exemplo, a vitamina B<sub>6</sub> ou a vitamina B<sub>2</sub>, também é possível como opção. A invenção tem ainda por base o conhecimento surpreendente, relativamente ao WO 03/070255, que, ao contrário da administração de folatos ou de outros tetra-hidrofolatos, a utilização unicamente do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato num contraceptivo também torna possível, no caso de um polimorfismo homozigótico ou heterozigótico da metilenotetra-hidrofolato reductase, a possibilidade de utilização ilimitada e suficiente pelo organismo do componente folato e, assim, da respectiva actividade biológica para prevenir malformações congénitas provocadas por um défice de folato.

O 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato é sintetizado no metabolismo (ver a Figura 1) a partir do 5, 10-metileno-(6R)-tetra-hidrofolato. Esta reacção bioquímica é catalisada pela enzima metilenotetra-hidrofolato reductase (MTHFR), da qual se conhece diversas mutações genéticas que se manifestam em certa medida numa actividade biológica limitada (polimorfismo da MTHFR C677T). O 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato é transformado noutra etapa, catalisada pela enzima metionina sintase (MS), no tetra-hidrofolato.

Neste caso, ocorre a transferência do grupo 5-metilo do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato para o aminoácido homocisteína (Hcy), que é neste caso transformado no aminoácido metionina (Met). Esta reacção dependente da vitamina B<sub>12</sub> também é denominada remetilação da homocisteína no metabolismo da homocisteína. O 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato assume uma posição especial no grupo dos folatos reduzidos, visto que o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato apenas pode ser transformado no tetra-hidrofolato por meio da reacção de remetilação da homocisteína. O tetra-hidrofolato é a verdadeira molécula de suporte das moléculas de monocarbono de diferentes etapas de oxidação. No metabolismo, só é possível sintetizar o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato a partir do 5,10-metileno-(6R)-tetra-hidrofolato e continuar a ser metabolizado apenas pela transformação em tetra-hidrofolato. A primeira reacção enzimática (MTHFR) não é reversível sob condições fisiológicas, a segunda reacção enzimática (MS) depende da vitamina B<sub>12</sub>, ou seja, em caso de défice de vitamina B<sub>12</sub>, ocorre a acumulação de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato e deixa de poder ser metabolizado. Este fenómeno também é conhecido pelo termo armadilha de metilo (*methyl trap*). Somente o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, e não os demais folatos oxidados e reduzidos, tais como ácido fólico, 7,8-di-hidrofolato, (6S)-tetra-hidrofolato, 5-formil-(6S)-tetra-hidrofolato, 10-formil-(6R)-tetra-hidrofolato, 5,10-metenil-(6R)-tetra-hidrofolato, 5-forminino-(6S)-tetra-hidrofolato, apresenta esta propriedade particular. O 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato é o único folato de origem natural que não camufla um défice de vitamina B<sub>12</sub>. Isto é particularmente significativo quando se utiliza o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato em combinação com contraceptivos orais e

constitui objecto da presente invenção.

Como gestagénios, é possível empregar na composição farmacêutica de acordo com a invenção as seguintes substâncias: levonorgestrel, norgestimato, noretisterona, didrogesterona, drospirenona, 3-beta-hidroxidesogestrel, 3-cetodesogestrel (= etonogestrel), 17-deacetilnorgestimato, 19-norprogesterona, acetoxipregnenolona, alilestrenol, amgestona, clormadinona, ciproterona, demegestona, desogestrel, dienogest, di-hidrogesterona, dimetisterona, etisterona, diacetato de etinodiol, acetato de fluorogestona, gastrinona, gestodeno, gestrinona, hidroximetilprogesterona, hidroxiprogesterona, linestrenol (= linoestrenol), mecirogestona, medroxiprogesterona, megestrol, melengestrol, nomegestrol, noretindrona (= noretisterona, noretinodrel, norgestrel (inclusive d-norgestrel e dl-norgestrel, norgestrienona, normetisterona, progesterona, quingestanol, (17-alfa)-17-hidroxi-11-metileno-19-norpregna-4,15-dien-20-in-3-ona, tibolona, trimegestona, algestona, acetofenida, nestorona, promegestona, éster de 17-hidroxiprogesterona, 19-nor-17-hidroxiprogesterona, 17-alfa-etinil-testosterona, 17-alfa-etinil-19-nortestosterona, d-17-beta-acetoxi-13-beta-etil-17-alfa-etinil-gon-4-en-3-onoxima ou os compostos revelados no WO 00/66570, em particular tanaproget. É dada preferência aos levonorgestrel, norgestimato, noretisterona, drospirenona, didrogesterona. Prefere-se em particular a drospirenona.

Como estrogénios, prefere-se os etinilestradiol, estradiol e mestranol, sendo dada especial preferência ao etinilestradiol.

As quantidades empregues de acordo com a invenção dos respectivos gestagénios e/ou estrogénios correspondem às quantidades usualmente conhecidas em contraceptivos.

Estas são, normalmente e por exemplo, para os gestagénios que se seguem:

Drospirenona	0,5 - 5 mg
Levonorgestrel	30 - 250 µg
Norgestimato	180 - 250 µg
Acetato de noretisterona	0,5 - 1 mg
Acetato de ciproterona	1 - 2 mg
Desogestrel	20 - 150 µg
Dienogest	2 - 3 mg
Gestodeno	60 - 75 µg
Tibolona	2,5 mg

De acordo com a presente invenção, a quantidade preferida ministrada diariamente é, por exemplo, de 0,5 a 5 mg de drospirenona, com especial preferência de 3 mg.

A quantidade de estrogénio empregue de acordo com a invenção é, para os estrogénios seguidamente referidos, de cerca de:

Etinilestradiol	10 - 50 µg
Estradiol	1 - 4 mg
Metranol	50 µg

De acordo com a presente invenção, a quantidade ministrada diariamente, por exemplo de etinilestradiol, é de 10 a 50

µg, com especial preferência de 10 a 30 µg, com total preferência de 20 a 30 µg.

Como 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolatos na forma de acordo com a invenção, tem-se a forma ácida livre assim como sais compatíveis a nível farmacêutico e modificações do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico (ácido N-[4-[(2-amino-1,4,5,6,7,8-hexa-hidro-4-oxo-5-metil-(6S)-pteridinil)-metil]-amino]-benzoil]-L-glutâmico).

Os sais compatíveis a nível farmacêutico deverão ser tanto compatíveis a nível farmacológico como a nível farmacêutico. Estes sais compatíveis a nível farmacológico e a nível farmacêutico podem ser sais de metais alcalinos ou sais de metais alcalino-terrosos, de preferência sais de sódio, de potássio, de magnésio ou de cálcio. É dada especial preferência ao sal de cálcio.

A quantidade utilizada, por exemplo, do sal de cálcio, especialmente preferido de acordo com a invenção, do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico (*metafolin*) encontra-se entre 0,1 e 10 mg, de preferência entre 0,4 e 1 mg, sendo com especial preferência de 451 µg (correspondendo a 400 µg de ácido fólico ou 416 µg de ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico).

Como modificação dos 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolatos, emprega-se de preferência modificações cristalinas de acordo com o EP 1044975.

Opcionalmente, pode estar presente a vitamina B<sub>6</sub> ou a vitamina B<sub>2</sub>. Na execução da invenção, não é contudo necessária uma adição correspondente. A vitamina B<sub>6</sub> pode

ser utilizada numa dose entre 1 mg e 5 mg, de preferência na aplicação de dosagem normal entre 1 mg e 3 mg por dia. A vitamina B<sub>2</sub> pode ser aplicada numa dose entre 1 mg e 5 mg, de preferência na aplicação normalmente doseada entre 1 mg e 2 mg por dia e numa aplicação de alta dosagem entre 2 e 5 mg por dia.

Os gestagénios e/ou os estrogénios são neste caso as substâncias de acção contraceptiva. O 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato é adicionado como vitamina, de modo a prevenir doenças e malformações causadas pela falta de folato, sem com isso mascarar os sintomas de uma eventual falta de vitamina B<sub>12</sub>. Além disso, também beneficiam do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato as mulheres que, devido a uma actividade enzimática reduzida da MTHFR (polimorfismo da MTHFR C677T), apenas são capazes de metabolizar de forma limitada o ácido fólico mas também folatos reduzidos.

Na variante preferida da presente invenção, a quantidade ministrada diariamente de drospirenona é de 0,5 a 5 mg, de preferência de 3 mg, a do etinilestradiol é de 10 a 50 µg, de preferência de 10 a 30 µg, com especial preferência de 20 a 30 µg. O sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico encontra-se presente, nesta variante preferida da presente invenção, numa quantidade de 0,1 a 10 mg, de preferência de 0,4 a 1 mg, sendo com especial preferência de 451 µg (correspondendo a 400 µg de ácido fólico).

A formulação dos preparados farmacêuticos à base da nova composição farmacêutica é realizada de forma de si conhecida, ao processar as substâncias activas com as substâncias de suporte, substâncias de carga, agentes que influenciam a decomposição, agentes de ligação, agentes

humectantes, lubrificantes, absorventes, diluentes, correctores de aroma, corantes, etc. usuais na farmácia galénica, e ao passá-las às formas de aplicação pretendidas, as quais também incluem formas retardadas.

No medicamento de acordo com a invenção, o estrogénio e o gestagénio e o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato podem encontrar-se em unidades de dosagem conjuntas. No entanto, o estrogénio com o gestagénio, por um lado, e o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, por outro, também podem ser formulados em unidades de dosagem em separado.

Tanto a vitamina B<sub>12</sub> como o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato são instáveis em relação ao oxigénio atmosférico e à humidade do ar. Na tentativa de formular em conjunto o etinilestradiol e a vitamina B<sub>12</sub>, verificou-se existir uma incompatibilidade entre estas duas substâncias. As medições dos níveis de incompatibilidade entre os componentes de formulação previstos foram realizadas por um método termoanalítico (DSC, *Differential Scanning Calorimetry* = calorimetria diferencial de varrimento). Neste caso, os níveis de incompatibilidade podem ser reconhecidos por baixas entalpias de fusão e temperaturas de fusão. Estas são por exemplo causadas por um reduzido teor de substância cristalina e pelo aumento das impurezas. Na determinação, estudou-se misturas binárias de substâncias auxiliares ou substâncias activas por sua vez com a vitamina B<sub>12</sub>, e testou-se a compatibilidade sob a influência de diferentes gases e temperaturas. A vitamina B<sub>12</sub> mostrou nos estudos descritos uma forte interacção com o etinilestradiol. Os resultados das medições de incompatibilidade encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1:** Resumo do estudo de compatibilidade

Substância	Compatibilidade	Tipo de compatibilidade	Comentários
Drospirenona	+	Sobretudo boa	Sensível ao O <sub>2</sub>
Etinilestradiol	---	Interacção forte	Muito sensível ao O <sub>2</sub>
Complexo de β-cyclodextrina etinilestradiol	+	Sobretudo boa abaixo dos 60°C	Sensível ao O <sub>2</sub> , sensível à humidade
Lactose	+	Sobretudo boa abaixo dos 60°C	Sensível ao O <sub>2</sub> , sensível à humidade
Amido de milho	++	Boa abaixo dos 60°C	Sensível ao O <sub>2</sub> , sensível à humidade
Amido de milho modificado	++	Boa abaixo dos 60°C	Sensível ao O <sub>2</sub> , sensível à humidade
Polivinil-pirrolidona	+	Sobretudo boa abaixo dos 60°C	Sensível ao O <sub>2</sub> , sensível à humidade
Estearato de magnésio	++/-	Indiferente, boa abaixo dos 60°C	Sensível ao O <sub>2</sub> , sensível à humidade
Hidroxipropil-metilcelulose	++	Boa abaixo dos 60°C	Sensível ao O <sub>2</sub> , sensível à humidade
Hidroxipropil-celulose	++	Boa abaixo dos 60°C	Sensível ao O <sub>2</sub> , sensível à humidade
Maltodextrina	+/-	Indiferente, boa abaixo dos 60°C	Sensível ao O <sub>2</sub> , sensível à humidade
Polietilenoglicol 6000	-	Interacção com a humidade	Sensível ao O <sub>2</sub> , sensível à humidade
Mistura de laca ( <i>Lackmix</i> )	+	Sobretudo boa abaixo dos 60°C	Sensível ao O <sub>2</sub> , sensível à humidade

Legenda:

++       boa compatibilidade prevista abaixo da temperatura indicada

+       compatibilidade abaixo da temperatura indicada

- ++/- compatibilidade indiferente, possivelmente boa
- compatibilidade abaixo da temperatura indicada
- +/- compatibilidade indiferente, parece ser
- compatível abaixo da temperatura indicada
- (---) (forte) interacção, incompatível

Devido às suas propriedades molhantes, a polivinilpirrolidona (PVP) é muito adequada a formulações hormonais (Moneghini et al., "Int J Pharm" 175, 1998, 177 - 183). Uma formulação de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato com PVP acelera porém a decomposição do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato (comparar a Tabela 2 e a 3; Processo 3).

Outro objectivo na base do presente pedido, e que é atingido com a presente invenção, trata-se por conseguinte de conseguir uma possibilidade de formular com estabilidade o etinilestradiol na presença de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato e, opcionalmente, da vitamina B<sub>12</sub>.

Descobriu-se que a incompatibilidade entre o etinilestradiol e a vitamina B<sub>12</sub> pode de forma surpreendente ser evitada, caso se empregue o etinilestradiol na formulação na forma do complexo de etinilestradiol-beta-ciclodextrina (etinilestradiol como clatrato de  $\beta$ -ciclodextrina; ver a produção no WO 02/49675).

As formulações de acordo com a invenção correspondentes encontram-se descritas no exemplo de execução 1 (ver as composições A, B e D).

Contém, entre outros, uma mistura de amido de milho e de amido de milho modificado (*starch* = amido). O amido

consiste em amilose e amilopectina. As duas são polissacáridos com base em unidades de  $\alpha$ -glucose. Em vez de amido de milho, também é possível empregar, por exemplo, amido de arroz, amido de batata ou amido de trigo em formulações farmacêuticas. O amido é inchado, suspenso ou dissolvido como líquido ligante ou é empregue na forma de sólido. Pode estar não modificado ou semi-modificado. O amido de milho de preferência empregue de acordo com a invenção tem a fórmula empírica  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , em que  $n = 300 - 1\ 000$ . O seu peso molecular é de 50 000 - 160 000.

O amido utilizado em formulações farmacêuticas serve apenas em parte como substância de carga pura. Por outro lado, tem o uso de ligante. Em conformidade com a invenção, deverá adicionar-se 1 - 5%, de preferência 1,8 - 3%, do peso dos comprimidos como ligante na forma de amido de milho. A par do amido de milho, também é possível empregar amido, um composto de amido como a maltodextrina ou derivados de celulose, como, por exemplo, carboximetilcelulose, etilcelulose, hidroxipropilcelulose, hidroxipropilmetylcelulose ou metilcelulose. Emprega-se preferencialmente, de acordo com a invenção, derivados de celulose de baixa substituição. Estes mostram numa solução aquosa a 2 por cento, uma viscosidade de 1 - 20 mPas. Prefere-se, segundo a invenção, os derivados com uma viscosidade de 2 - 20 mPas, com especial preferência os com uma viscosidade de 3 - 6 mPas.

Na formulação preferida de acordo com a invenção, é possível substituir uma parte do amido de milho utilizado por hidroxipropilcelulose de baixa substituição (HPC) numa concentração de 0,5 - 5% (w/w), de preferência 1 - 3% (w/w), com especial preferência de 2% (w/w). De baixa

substituição é a hidroxipropilcelulose sempre que não estejam esterificados ou eterificados menos de 5% e mais de 16% dos seus grupos hidroxilo.

Na Tabela 2 encontra-se representado o teor de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato por comprimido em %, em relação ao teor teórico de 100% em função do ligante empregue logo temporalmente a seguir à produção. O teor representado de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato foi determinado no *Content Uniformity Test* (CUT). A produção da formulação estudada (Processo 2) teve lugar por mistura dos componentes, granulação com a parte do amido de milho utilizada como ligante, adesão do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato depois de terminado o processo de granulação, de novo mistura e moldagem em comprimidos. Comparativamente a isto, adicionou-se à formulação, após o Processo 3, polivinilpirrolidona em vez de amido de milho como ligante. O teor de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato na formulação produzida de acordo com o Processo 3 é menor.

**Tabela 2:** Teor de *metafolin* em função do ligante directamente após a produção

	Teor de <i>metafolin</i> Adesão, PVP (Processo 3)	Teor de <i>metafolin</i> Adesão, amido de milho (Processo 2)
Média	90,5%	96,1%

Na Tabela 3 encontra-se representado o teor de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato em função do ligante utilizado, após o armazenamento de um mês a certas temperaturas e com certos níveis de humidade do ar. A tendência reconhecível na Tabela 2 de o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato formulado com PVP ser instável é em particular confirmada sob

condições de armazenamento de 40°C e com 75% de humidade relativa do ar.

**Tabela 3:** Teor de *metafolin* em função do ligante após armazenamento

	25°C / 60% hr adesão PVP (Processo 3)	25°C / 60% hr adesão amido de milho (Processo 2)	40°C / 75% hr Adesão PVP (Processo 3)	40°C / 75% hr adesão amido de milho (Processo 2)
frascos abertos	89,5%	92,1%	37,7%	67,7%

A produção de uma formulação oral ocorre normalmente por meio de granulação, moldagem em comprimidos e revestimento com película. No entanto, o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato é logo decomposto durante a granulação, devido à sua sensibilidade ao oxigénio e à humidade. Contudo, é particularmente vincada a continuação da decomposição do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato durante o armazenamento. Numa formulação, em que - como usual - se mistura primeiro todos os componentes do medicamento, incluindo o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato e só depois se procede à respectiva granulação, somente perto de um resto de 60% (ver a tabela 5) do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato originalmente empregue permaneceu no frasco fechado, após um tempo de armazenamento de um mês nos 40°C e com 75% de humidade relativa do ar. As perdas durante o processo de granulação podem ser reduzidas ao proceder-se à adesão do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato apenas depois de terminado o processo de granulação. A adição por mistura seca durante o processo leva nessa medida a uma estabilização do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato. No entanto, isto leva surpreendentemente ainda a uma maior estabilização durante o armazenamento. O teor do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato,

numa formulação produzida por adesão posterior, encontra-se acima dos 90% com os mesmos períodos de armazenamento e sob condições idênticas (ver a Tabela 5).

A Tabela 4 mostra o teor de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato por comprimido em %, em função do processo de produção aplicado temporalmente logo após a produção. A diferença entre o Processo 1 e o Processo 2 consiste no momento em que se adicionou o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato à produção do comprimido estudado. No processo 1, o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato já existia na mistura aquando da granulação, enquanto que no Processo 2 só foi adicionado a seguir à granulação. O teor de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato na formulação produzida pelo Processo 1 é claramente menor.

**Tabela 4:** Teor de *metafolin* em função do processo de produção logo após a produção

	Teor de <i>metafolin</i> Granulação (Processo 1)	Teor de <i>metafolin</i> Adesão (Processo 2)
Média	88,5	96,1%
Coeficiente de distribuição	6,1	2,5

A Tabela 5 mostra o teor de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato em função do processo de produção utilizado, após um mês de armazenamento a certas temperaturas e com certos níveis de humidade do ar. A tendência reconhecível na Tabela 4 de o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato adicionado já estar instável antes da granulação, é sobretudo confirmada sob condições de armazenamento de 40°C e com 75% de humidade relativa do ar (hr).

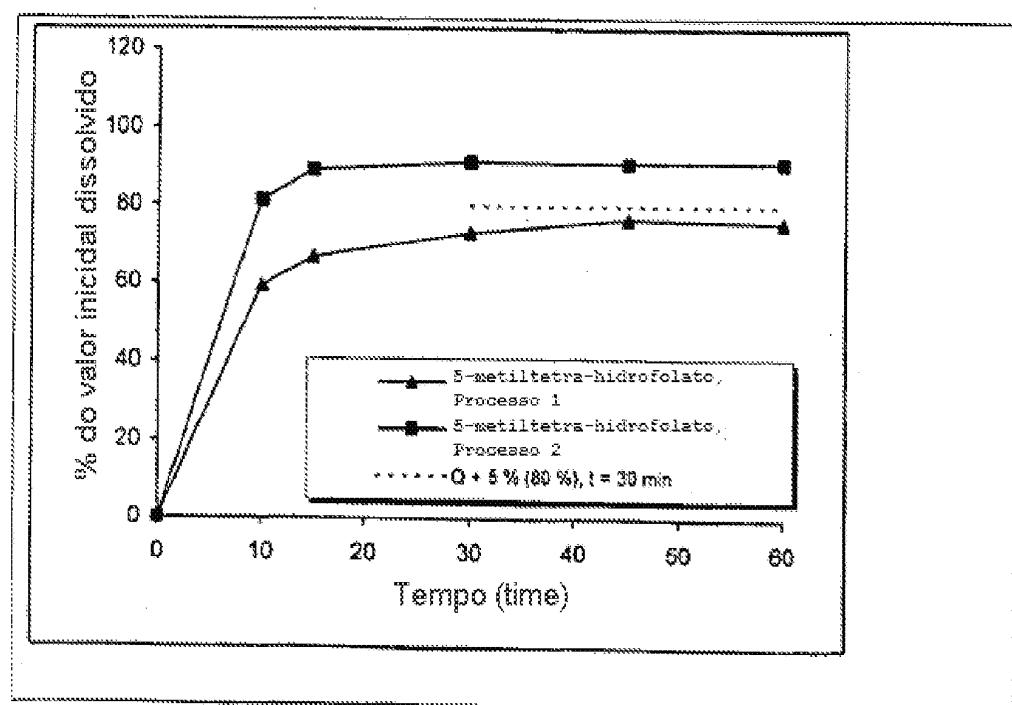
**Tabela 5:** Teor de *metafolin* em função do processo de produção após o armazenamento

	25°C / 60% hr Granulação (Processo 1)	25°C / 60% hr Adesão (Processo 2)	40°C / 75% hr Granulação (Processo 1)	40°C / 75% hr Adesão (Processo 2)
Frascos abertos	63,2%	92,1%	43,4%	67,7%
Frascos fechados	74,5%	92,5%	58,9%	90,1%

Sabe-se que, na adição por mistura seca, a libertação é mais lenta do que no caso de uma granulação. De forma surpreendente, verificou-se contudo que a adição por mistura seca do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato não retarda a libertação, indo mesmo acelerá-la. Neste intuito, analisou-se os comprimidos numa experiência de dissolução *in vitro* por meio de um equipamento de pás USP nas 50 rpm e nos 37°C, numa solução de ácido ascórbico aquosa a 0,03 por cento. A Tabela 6 mostra os resultados das experiências de dissolução *in vitro*.

**Tabela 6:** Dissolução em %

Tempo [min]	5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato Processo 1 Dissolução [%]	5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato Processo 2 Dissolução [%]
0	0	0
10	59,2	81,4
15	66,8	89,3
30	73,1	91,3
45	76,7	91,1
60	75,8	91,2



A toma regular da composição farmacêutica de acordo com a invenção, com a dose particularmente preferida de 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico por dia, leva a um aumento das concentrações de folato no plasma e nos eritrócitos até se atingir um equilíbrio (*steady state* = estado estacionário). A respectiva cinética de invasão do folato dos eritrócitos é descrita por um tempo de semi-vida de 6 a 10 semanas. Com base neste tempo de semi-vida, prevê-se chegar a cerca de 97% do nível de estado estacionário do folato dos eritrócitos passados aproximadamente 5 tempos de semi-vida (correspondendo a cerca de 30 a 50 semanas). Na toma diária continuada da composição farmacêutica de acordo com a invenção, os níveis de folato dos eritrócitos permanecem nas gamas das concentrações do estado estacionário. Depois da descontinuação da toma da composição farmacêutica de acordo com a invenção, os níveis de folato dos eritrócitos decrescem lentamente com um tempo de semi-vida também de cerca de 6 a 10 semanas. Deste modo, os níveis de folato dos eritrócitos permanecem, mesmo sem a continuação da toma da composição farmacêutica de acordo com a invenção, numa gama superior ao limite de 906 nmol/L, considerado em termos gerais suficiente para prevenir defeitos do tubo neural. O preparado de acordo com a invenção garante, por isso, a prevenção do risco de doenças devidas a um défice de folato e de malformações congénitas devidas a um défice de folato, mesmo depois de se interromper uma toma durante um longo prazo do medicamento de acordo com a invenção ("pílula").

Em conformidade com a invenção, tem-se também a utilização do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, de um ou mais

estrogénios, escolhidos do grupo dos etinilestradiol, mestranol, quinestranol, estradiol, estrona, estrano, estriol, estetrol e estrogénios equinos conjugados, e/ou gestagénios, e opcionalmente da vitamina B<sub>6</sub> e/ou da vitamina B<sub>2</sub>, assim como de substâncias auxiliares e de substâncias de suporte compatíveis a nível farmacêutico, na ausência da vitamina B<sub>12</sub>, na produção de um medicamento para a prevenção duradoura do risco de doenças causadas por um défice de folato e de malformações congénitas causadas por um défice de folato, pelo menos 8 semanas depois de terminada uma toma continuada e durante um longo prazo anterior deste medicamento.

Em conformidade com a invenção, tem-se também um kit contendo pelo menos 20 unidades de dosagem diárias que contêm o medicamento de acordo com a invenção, e pelo menos uma unidade de dosagem diária contendo o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, assim como, opcionalmente, a vitamina B<sub>6</sub> e/ou a vitamina B<sub>2</sub>, em que o número de todas as unidades de dosagem contidas no kit é de pelo menos 28, e em que as unidades de dosagem estão dispostas de modo a que sejam primeiro tomadas as unidades de dosagem que contêm o medicamento de acordo com a invenção e, em seguida, as unidades de dosagem que não contêm estrogénio nem gestagénio. No caso das pelo menos 20 unidades de dosagem diárias contendo o medicamento de acordo com a invenção, primeiro referidas, também é possível formular o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato em separado e dispô-lo espacialmente na forma unidades de dosagem adicionais, de modo a que desta disposição resulte a toma conjunta das duas unidades de dosagem.

Outras execuções de acordo com a invenção para diferentes

kits encontram-se reproduzidas nas reivindicações 18 a 22, 38, 39 e 40.

Em particular também é possível, de acordo com as reivindicações 43 a 50, ministrar o medicamento de acordo com a invenção num denominado "regime extensivo". Trata-se aqui de uma administração por mais de 28 dias sem excepção do medicamento, em que o ciclo de aplicação prolongado é completado por uma administração de 1 a 7 dias exclusivamente de unidades de dosagem contendo o 5-meti-(6S)-tetra-hidrofolato, ou pela toma de 1 a 7 placebos (unidades de dosagem de substância activa) ou de 1 a 7 dias de pílulas falsas (sem administração de qualquer unidade de dosagem).

Os exemplos que se seguem servem para explicar o objecto da invenção em maior detalhe, sem que o mesmo fique a eles limitado.

### Exemplo 1

A composição dos comprimidos de acordo com a invenção (80 mg) encontra-se na tabela 7.

**Tabela 7:** Composição dos comprimidos de acordo com a invenção

Ingrediente	Quantidade			
	A	B	C	D
Composição				
Drospirenona	3 mg	3 mg	---	3 mg
Etinilestradiol*	0,03 mg	0,02 mg	---	0,03 mg
Metafolin	0,451 mg	0,451 mg	0,451 mg	0,451 mg
Vitamina B <sub>12</sub>	---	---	---	0,1 mg
Mono-hidrato de lactose	Até 80 mg	Até 80 mg	Até 80 mg	Até 80 mg
Amido de milho	16,40 mg	16,40 mg	16,40 mg	16,40 mg
Amido de milho**	2 mg***	2 mg***	2 mg***	2 mg***
Amido de milho modificado	9,60 mg	9,60 mg	9,60 mg	9,60 mg
Esterato de magnésio	0,80 mg	0,80 mg	0,80 mg	0,80 mg

\*: Opcionalmente como complexo de etinilestradiol-beta-ciclodextrina; a indicação da quantidade é neste caso relativa ao etinilestradiol não complexado. Em caso de utilização do complexo de etinilestradiol-beta-ciclodextrina, dever-se-á empregar cerca de dez vezes a quantidade. O teor de etinilestradiol no complexo de  $\beta$ -ciclodextrina é de cerca de 9,5 a 12,5% (ver o WO 02/49675).

\*\*: A parte identificada por \*\* do amido de milho pode ser substituída por um ligante alternativo, como, por exemplo, 1,6 mg de hidroxipropilcelulose de baixa substituição.

\*\*\*: A quantidade do amido de milho\*\* empregue como ligante também pode, por exemplo, ser de 1,8 mg.

A produção da formulação oral é feita pela mistura dos ingredientes acima referidos, granulação com a parte utilizada como ligante do amido de milho, adesão do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico depois de acabado o processo de granulação, de novo mistura, moldagem de comprimidos e revestimento com película.

### **Exemplo 2**

Colheu-se sangue de 80 mulheres jovens e saudáveis em idade fértil num intervalo de 8 semanas e determinou-se o nível de folato dos eritrócitos com um método microbiológico, imunológico ou instrumental validado (por exemplo, HPLC, LC-MS/MS) ou com uma combinação apropriada destes métodos.

8 semanas após a primeira colheita de sangue (fase de rastreio), procede-se da seguinte forma num período de 40 semanas:

aplicação diária de 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico

ou em alternativa:

ministra-se nos primeiros 21 dias do respectivo ciclo ao mesmo tempo 3 mg de drospirenona, 30 µg de etinilestradiol e 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico (comprimido conforme a composição A de acordo com o exemplo de execução 1). Numa fase logo seguinte, continua-se a administração de 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico durante 7 dias (composição C). Durante mais 21 dias (segundo ciclo), aplica-se de novo 3 mg de drospirenona, 30 µg de

etinilestradiol e 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico (composição A), e por mais 7 dias apenas 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico (composição C), e por aí fora (fase de medicação).

Passadas 48 horas deixa-se de todo de ministrar o 5-(metil-(6S)-tetra-hidrofolato. Em alternativa, é possível ministrar mais drospirenona e etinilestradiol durante mais 40 semanas ou então serem descontinuados.

A última colheita de sangue é realizada passadas 88 semanas. A taxa de abandono pode chegar aos 50% devido a carácter de longo prazo do estudo.

**Exemplo 3:**

Colheu-se sangue de 80 mulheres jovens saudáveis em idade fértil num intervalo de 8 semanas e determinou-se o nível de folato dos eritrócitos com um método microbiológico, imunológico ou instrumental (por exemplo, HPLC, LC-MS/MS) ou com uma combinação apropriada destes métodos.

8 semanas após a primeira colheita de sangue, ministra-se num período de 40 semanas nos primeiros 24 dias do respectivo ciclo, ao mesmo tempo 3 mg de drospirenona, 20 µg de etinilestradiol e 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico (composição B). Numa fase logo seguinte, continua-se a administração de 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico durante 7 dias (composição C). Durante mais 21 dias (segundo ciclo), aplica-se de novo 3 mg de drospirenona, 20 µg de etinilestradiol e 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico (composição B), e por mais 7 dias

apenas 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico (composição C), e por aí fora.

Passadas 48 horas deixa-se de todo de ministrar o 5-(metil-(6S)-tetra-hidrofolato, enquanto se ministra mais drospirenona e etinilestradiol durante mais 40 semanas, ou também são descontinuados.

A última colheita de sangue é realizada passadas 88 semanas. A taxa de abandono pode chegar aos 50% devido ao carácter de longo prazo do estudo.

O valor inicial do nível de folato dos eritrócitos dos sujeitos da experiência é, em função dos hábitos alimentares, de cerca de 500 a 700 nmol/L, em todo o caso porém inferior a 906 nmol/L. Este valor aumenta, mantendo-se os mesmos hábitos alimentares, com a aplicação da composição farmacêutica de acordo com a invenção nos dias seguintes e atinge logo passadas 6 a 8 semanas - portanto, após o segundo ciclo - um valor de cerca de 906 nmol/L. Após uma administração prolongada durante pelo menos 30 semanas (correspondendo ao quíntuplo do valor inferior do tempo de semi-vida), atinge-se um nível de folato dos eritrócitos de aproximadamente 1 200 a 1 600 nmol/L (estado estacionário), mantendo os mesmos hábitos alimentares. Depois de terminada a aplicação do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, ocorre um decréscimo contínuo do nível de folato dos eritrócitos. A partir de uma concentração do estado estacionário média de 1 400 nmol/L e mantendo os mesmos hábitos alimentares, fica-se aquém de um nível de folato dos eritrócitos de 906 nmol/L e, com isso, da concentração mínima nos eritrócitos geralmente suficiente para prevenir defeitos do tubo neural, provavelmente nas

11.<sup>a</sup> à 13.<sup>a</sup> semanas depois da descontinuação da toma da composição farmacêutica de acordo com a invenção

**Exemplo 4: Estudo do folato a longo prazo**

Colheu-se sangue de 180 mulheres jovens saudáveis em idade fértil (metade das quais receberam alimentação enriquecida com ácido fólico) num intervalo de 2 semanas e determinou-se o nível de folato dos eritrócitos com um método microbiológico, imunológico ou instrumental validado (por exemplo, HPLC, LC-MS/MS) ou com uma combinação apropriada destes métodos.

8 semanas após a primeira colheita de sangue, ministra-se a um primeiro grupo de 90 mulheres num período de 24 semanas

nos primeiros 21 dias do respectivo ciclo ao mesmo tempo 3 mg de drospirenona, 30 µg de etinilestradiol e 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico. Numa fase logo seguinte, continua-se a administração de 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico durante 7 dias. Durante mais 21 dias (segundo ciclo), aplica-se de novo 3 mg de drospirenona, 30 µg de etinilestradiol e 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico, e por mais 7 dias apenas 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico, e por aí fora (fase de medicação).

Como grupo de controlo, ministra-se a um grupo de 90 mulheres, seguindo o mesmo esquema de administração, 3 mg de drospirenona, 30 µg de etinilestradiol e 400 µg de ácido fólico.

A última colheita de sangue é realizada passadas 24 semanas em ambos os casos. A isto segue-se um período posterior de observação de 20 semanas, no período de 20 semanas ministra-se o preparado anticoncepcional Yasmin®, ou seja, nos primeiros 21 dias do respectivo ciclo, ministra-se ao mesmo tempo 3 mg de drospirenona e 30 µg de etinilestradiol; logo a seguir não se ministra qualquer substância activa durante 7 dias (placebos ou nenhuma administração). A taxa de abandono pode chegar aos 30%.

O valor inicial do nível de folato dos eritrócitos dos sujeitos da experiência é inferior a 906 nmol/L. Este valor aumenta, mantendo os mesmos hábitos alimentares, com a aplicação da composição farmacêutica de acordo com a invenção nos dias seguintes e atinge na maioria das mulheres, logo passadas 6 a 8 semanas, um valor de cerca de 906 nmol/L. Após uma administração prolongada durante 24 semanas, atinge-se um nível de folato dos eritrócitos, mantendo os mesmos hábitos alimentares dos dois grupos, que mostra a equivalência entre os dois grupos de tratamento (critério de bioequivalência 80 - 125%). Depois de terminada a aplicação do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, ocorre um decréscimo contínuo do nível de folato dos eritrócitos. Determina-se quando o nível de folato dos eritrócitos fica aquém do valor reconhecido de 906 nmol/L, geralmente considerado suficiente para prevenir defeitos do tubo neural.

A maioria das mulheres no primeiro grupo ainda apresenta o tal nível suficiente de folato dos eritrócitos 3 meses depois de terminada a toma.

Lisboa, 10 de Julho de 2009

## **REIVINDICAÇÕES**

1. Medicamento contendo

- 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato,
- um ou mais estrogénios, seleccionados do grupo dos etinilestradiol, mestranol, quinestranol, estradiol, estrona, estrano, estriol, estetrol e estrogénios equinos conjugados e/ou gestagénios,
- opcionalmente vitamina B<sub>6</sub> e/ou vitamina B<sub>2</sub>,
- e substâncias auxiliares/substâncias de suporte compatíveis a nível farmacêutico,  
na ausência da vitamina B<sub>12</sub>.

2. Medicamento de acordo com a reivindicação 1, que contém pelo menos um gestagénio, seleccionado do grupo dos levonorgestrel, norgestimato, noretisterona, didrogestrona, drospirenona, 3-beta-hidroxidesogestrel, 3-cetodesogestrel (= etonogestrel), 17-deacetilnorgestimato, 19-norprogesterona, acetoxipregnolona, alilestrenol, amgestona, clormadinona, ciproterona, demegestona, desogestrel, dienogest, di-hidrogestrona, dimetisterona, etisterona, diacetato de etinodiol, acetato de fluorogestona, gastrinona, gestodeno, gestrinona, hidroximetilprogesterona, hidroxiprogesterona, linestrenol (= linoestrenol), mecirogestona, medroxiprogesterona, megestrol, melengestrol, nomegestrol, noretindrona (= noretisterona), noretinodrel, norgestrel (inclusive d-norgestrel e dl-norgestrel), norgestrienona, normetisterona, progesterona, quingestanol, (17-alfa)-17-hidroxi-11-metileno-19-norpregna-4,15-dien-20-in-3-

ona, tibolona, trimegestona, algestona-acetofenida, nestorona, promegestona, éster de 17-hidroxiprogesterona, 19-nor-17-hidroxiprogesterona, 17-alfa-etinil-testosterona, 17-alfa-etinil-19-nortestosterona, d-17-beta-acetoxi-13-beta-etil-17-alfa-etinil-gon-4-en-3-onoxima ou os compostos revelados no WO 00/66570, em particular o tanaproget.

3. Medicamento de acordo com a reivindicação 1, contendo um sal de cálcio cristalino do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico.
4. Medicamento de acordo com a reivindicação 1, contendo 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, drospirenona e etinilestradiol.
5. Medicamento de acordo com a reivindicação 4, contendo uma dose diária de 0,1 a 10 mg de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato.
6. Medicamento de acordo com a reivindicação 4, contendo uma dose diária de 0,4 a 1 mg de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato.
7. Medicamento de acordo com a reivindicação 4, contendo uma dose diária de 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico.
8. Medicamento de acordo com a reivindicação 4, contendo uma dose diária de 0,5 a 5 mg de drospirenona.
9. Medicamento de acordo com a reivindicação 4, contendo uma dose diária de 3 mg de drospirenona.

10. Medicamento de acordo com a reivindicação 4, contendo uma dose diária de 10 a 50 µg de etinilestradiol.
11. Medicamento de acordo com a reivindicação 4, contendo uma dose diária de 10 a 30 µg de etinilestradiol.
12. Medicamento de acordo com a reivindicação 4, contendo uma dose diária de 20 µg de etinilestradiol.
13. Medicamento de acordo com a reivindicação 4, contendo uma dose diária de 30 µg de etinilestradiol.
14. Medicamento de acordo com a reivindicação 4, contendo
  - uma dose diária de 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico,
  - uma dose diária de 3 mg de drospirenona e
  - uma dose diária de 20 µg de etinilestradiol.
15. Medicamento de acordo com a reivindicação 4, contendo
  - uma dose diária de 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico,
  - uma dose diária de 3 mg de drospirenona e
  - uma dose diária de 30 µg de etinilestradiol.
16. Kit contendo
  - pelo menos 20 unidades de dosagem diárias contendo um medicamento de acordo com uma das reivindicações anteriores e
  - pelo menos uma unidade de dosagem diária contendo

5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato e, opcionalmente, vitamina B<sub>6</sub> e/ou vitamina B<sub>2</sub>,

- em que o número de todas as unidades de dosagem contidas no kit é de pelo menos 28 e
- em que as unidades de dosagem estão dispostas de modo a que sejam tomadas primeiro as unidades de dosagem que contêm o medicamento de acordo com uma das reivindicações anteriores e, em seguida, as unidades de dosagem que contêm apenas o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato.

17. Kit de acordo com a reivindicação 16, contendo

- 20 - 30 unidades de dosagem diárias contendo um medicamento de acordo com uma das reivindicações 1 a 15, e
- 1 - 10 unidades de dosagem diárias contendo o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato.

18. Kit de acordo com a reivindicação 16, contendo

- 21 - 26 unidades de dosagem diárias contendo um medicamento de acordo com uma das reivindicações 1 a 15, e
- 2 - 7 unidades de dosagem diárias contendo o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato,
- sendo o número de todas as unidades de dosagem contidas no kit de 28.

19. Kit de acordo com a reivindicação 16, contendo

- 21 unidades de dosagem diárias contendo um medicamento de acordo com uma das reivindicações

1 a 15 e

- 7 unidades de dosagem diárias contendo o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato.

20. Kit de acordo com a reivindicação 16, contendo

- 24 unidades de dosagem diárias contendo um medicamento de acordo com uma das reivindicações 1 a 15 e
- 4 unidades de dosagem diárias contendo o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato.

21. Kit de acordo com a reivindicação 16, contendo 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico em cada unidade de dosagem diária.

22. Utilização de

- 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato,
  - um ou mais estrogénios do grupo dos etinilestradiol, mestranol, quinestranol, estradiol, estrona, estrano, estriol, estetrol ou estrogénio equino conjugado e/ou gestagénios,
  - opcionalmente vitamina B<sub>6</sub> e/ou vitamina B<sub>2</sub>,
  - e substâncias auxiliares/substâncias de suporte compatíveis a nível farmacêutico,
- na ausência da vitamina B<sub>12</sub>, na produção de um medicamento para a prevenção prolongada do risco de patologias causadas por um défice de folato e de malformações congénitas causadas por um défice de folato, pelo menos 6 - 10 semanas depois de terminada uma toma regular de longo prazo anterior deste medicamento.

23. Utilização de acordo com a reivindicação 22, caracterizada por a toma regular a longo prazo anterior ser de pelo menos 30 semanas.
24. Utilização de acordo com uma das reivindicações 22 ou 23, em que se selecciona o gestagénio do grupo dos levonorgestrel, norgestimato, noretisterona, didrogestrona, drospirenona, 3-beta-hidroxidesogestrel, 3-cetodesogestrel (= etonogestrel), 17-deacetyl norgestimato, 19-norprogesterona, acetoxipregnolona, alilestrenol, amgestona, clormadinona, ciproterona, demegestona, desogestrel, dienogest, di-hidrogestrona, dimetisterona, etisterona, diacetato de etinodiol, acetato de fluorogestona, gastrinona, gestodeno, gestrinona, hidroximetilprogesterona, hidroxiprogesterona, linestrenol (= linoestrenol), mecirogestona, medroxiprogesterona, megestrol, melengestrol, nomegestrol, noretindrona (= noretisterona, noretinodrel, norgestrel (inclusive d-norgestrel e dl-norgestrel), norgestrienona, normetisterona, progesterona, quingestanol, (17-alfa)-17-hidroxi-11-metileno-19-norpregna-4,15-dien-20-in-3-ona, tibolona, trimegestona, algestona-acetofenida, nestorona, promegestona, éster de 17-hidroxiprogesterona, 19-nor-17-hidroxiprogesterona, 17-alfa-etinil-testosterona, 17-alfa-etinil-19-nortestosterona, d-17-beta-acetoxi-13-beta-etyl-17-alfa-etinil-gon-4-en-3-onoxima ou os compostos revelados no WO 00/66570, em particular o tanaproget.
25. Utilização de acordo com a reivindicação 23 ou 24 para

- diminuir o risco de defeitos do tubo neural.
26. Utilização de acordo com a reivindicação 23 ou 24 para diminuir o risco de falhas cardíacas, em particular de defeitos nas válvulas ventriculares.
  27. Utilização de acordo com a reivindicação 23 ou 24 para diminuir o risco de malformações das vias urinárias (defeitos urogenitais).
  28. Utilização de acordo com a reivindicação 23 ou 24 para diminuir o risco de lábio leporino, gnatosquise e fenda palatal.
  29. Utilização de acordo com a reivindicação 23 ou 24 para diminuir o risco de abortos espontâneos.
  30. Utilização de acordo com a reivindicação 23 ou 24 para diminuir o risco de doenças malignas, em particular o carcinoma da mama ou o carcinoma do cólon.
  31. Utilização de acordo com a reivindicação 23 ou 24 para diminuir os risco de doenças cardiovasculares.
  32. Utilização de 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, drospirenona e etinilestradiol de acordo com as reivindicações 25 a 31.
  33. Utilização de 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico, 3 mg de drospirenona e 20 µg de etinilestradiol de acordo com as reivindicações 25 a 31.

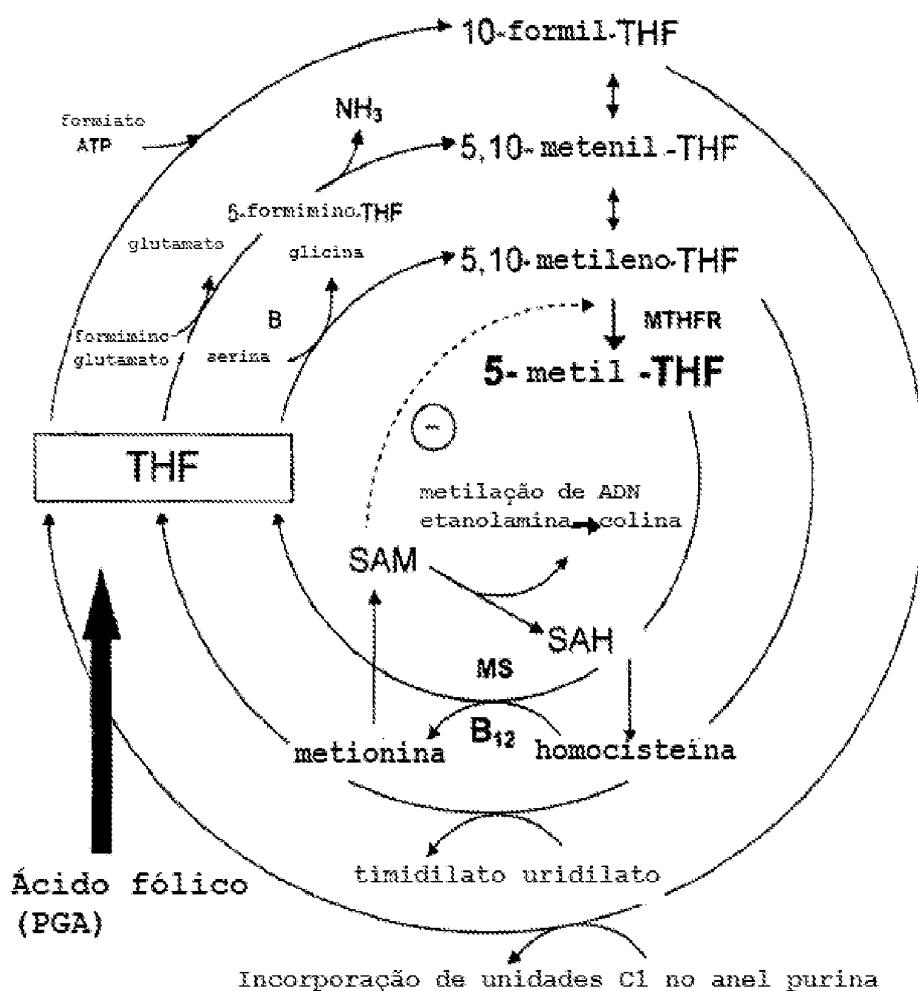
34. Utilização de 451 µg do sal de cálcio do ácido 5-metil-(6S)-tetra-hidrofólico, 3 mg de drospirenona e 30 µg de etinilestradiol de acordo com as reivindicações 25 a 31.
35. Utilização de acordo com a reivindicação 22 ou 23, caracterizada por a toma anterior pelo menos do 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato ocorrer numa forma retardada.
36. Kit de acordo com a reivindicação 16, contendo
  - 21 unidades de dosagem diárias contendo um medicamento de acordo com a reivindicação 14 e
  - 7 unidades de dosagem diárias contendo o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato.
37. Kit de acordo com a reivindicação 16, contendo
  - 24 unidades de dosagem diárias contendo um medicamento de acordo com a reivindicação 14 e
  - 4 unidades de dosagem diárias contendo o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato.
38. Kit de acordo com a reivindicação 16, contendo
  - 21 unidades de dosagem diárias contendo um medicamento de acordo com a reivindicação 15 e
  - 7 unidades de dosagem diárias contendo o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato.
39. Processo para a formulação do medicamento de acordo com uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado por o

- 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato apenas ser adicionado depois da granulação.
40. Processo de acordo com a reivindicação 39, caracterizado por se empregar hidroxipropilcelulose de baixa substituição como ligante.
41. Kit de acordo com a reivindicação 16, contendo mais de 28 unidades de dosagem diárias, em que pelo menos 28 unidades de dosagem diárias contêm um medicamento de acordo com uma das reivindicações 1 a 15, e em que pelo menos uma unidade de dosagem diária contém o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, e em que as unidades de dosagem estão dispostas de modo a que sejam primeiro tomadas as unidades de dosagem que contêm o medicamento de acordo com uma das reivindicações 1 a 15 e, em seguida, as unidades de dosagem que contêm apenas o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato.
42. Kit de acordo com a reivindicação 41, em que o número das unidades de dosagem, que contêm um medicamento de acordo com uma das reivindicações 1 a 15, é de 28 mais 21, 22, 23, 24, 25, 26 ou 27, ou um múltiplo inteiro de 28 mais 21, 22, 23, 24, 25, 26 ou 27, e em que o número das unidades de dosagem diárias, que contêm apenas o 5-metil-(6S)-tetra-hidrofolato, é de 7, 6, 5, 4, 3, 2 ou 1.
43. Kit de acordo com a reivindicação 42, em que o múltiplo é 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12.
44. Kit contendo mais de 28 unidades de dosagem diárias, em que pelo menos 28 unidades de dosagem diárias

contém um medicamento de acordo com uma das reivindicações 1 a 15, e em que pelo menos uma unidade de dosagem diária é um placebo ou um dia de pílula falsa, e em que as unidades de dosagem estão dispostas de modo a que sejam primeiro tomadas as unidades de dosagem que contém o medicamento de acordo com uma das reivindicações 1 a 15.

45. Kit de acordo com a reivindicação 44, em que o número das unidades de dosagem, que contêm um medicamento de acordo com uma das reivindicações 1 a 15, é de 28 mais 21, 22, 23, 24, 25, 26 ou 27, ou um múltiplo inteiro de 28 mais 21, 22, 23, 24, 25, 26 ou 27, e em que o número de placebos ou de dias de pílula falsa é de 7, 6, 5, 4, 3, 2 ou 1.
46. Kit de acordo com a reivindicação 45, em que o múltiplo é 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12.
47. Kit de acordo com uma das reivindicações 41 a 46, em que as unidades de dosagem contendo medicamento, contêm um medicamento de acordo com a reivindicação 14.
48. Kit de acordo com uma das reivindicações 41 a 46, em que as unidades de dosagem contendo medicamento, contêm um medicamento de acordo com a reivindicação 15.

Figura 1



#### Metabolismo do folato

- THF: tetra-hidrofolato  
 MTHFR: metilenotetra-hidrofolato reductase  
 MS: metionina sintase  
 SAM: S-adenosilmetionina  
 SAH: S-adenosil-homocisteína