

(11) Número de Publicação: **PT 1740154 E**

(51) Classificação Internacional:
A61K 9/20 (2007.10) **A61K 38/28** (2007.10)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2005.03.11	(73) Titular(es): BIODEL, INC.
(30) Prioridade(s): 2004.03.12 US 552637 P 2004.09.09 US 609194 P	100 SAW MILL ROAD DANBURY, CT 06810 US
(43) Data de publicação do pedido: 2007.01.10	(72) Inventor(es): SOLOMON S. STEINER US RODERIKE POHL US
(45) Data e BPI da concessão: 2009.06.17 177/2009	(74) Mandatário: ELSA MARIA MARTINS BARREIROS AMARAL CANHÃO RUA DO PATROCÍNIO 94 1399-019 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **COMPOSIÇÕES DE INSULINA COM ABSORÇÃO MELHORADA**

(57) Resumo:

DESCRIÇÃO

"COMPOSIÇÕES DE INSULINA COM ABSORÇÃO MELHORADA"

CAMPO DA INVENÇÃO

A invenção situa-se no campo geral de formulações de distribuição de fármacos de actuação rápida.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Até à data não foi desenvolvido um sistema eficaz de distribuição oral não invasivo para péptidos, em geral, e insulina, em particular, devido a vários factores limitadores. Em primeiro lugar, comprimidos ou líquidos que contêm péptidos, tal como insulina, são rapidamente digeridos no ambiente adverso do estômago e, assim, requerem protecção extensa para sobreviverem e serem absorvidos. Efeitos de alimentos e tempos individuais de trânsito gastrointestinal (GI) perturbam uma distribuição temporal ou quantitativa fiável.

A ausência de uma distribuição oral eficaz é adicionalmente complicada nalguns casos. Por exemplo, a insulina é muito estável na sua forma hexamérica (seis monómeros de insulina reunidos em redor de iões zinco). Em consequência, é preferível armazená-la nesta forma para se obter maior estabilidade em armazenamento. No entanto, esta forma é demasiado grande para uma absorção rápida através de membranas de tecidos.

A Patente U.S. Nº 6676931, de Dugger III, divulga pulverizações líquidas que distribuem um agente activo na boca para absorção através da mucosa oral. A Patente U.S. Nº 6676931 nota que o agente activo pode ser insulina lispro, que é um análogo da insulina humana de actuação rápida que contém insulina hexamérica. No entanto, essas pulverizações líquidas não são muito úteis para distribuir insulina hexamérica, devido à sua fraca absorção. Adicionalmente, muitos agentes activos não são estáveis na forma líquida e não podem ser armazenados em forma líquida. O documento WO 9749386 A divulga composições para distribuição oral de péptidos compreendendo um agente quelante. O último deve ser pré-distribuído.

Foi tentada a administração bucal utilizando pulverizações de insulina com biodisponibilidade limitada, uma vez que a insulina hexamérica não é facilmente absorvida e os líquidos são eventualmente engolidos. A dose administrada não é rapidamente absorvida e tem um perfil de absorção semelhante a injeção subcutânea. Devido à sua má biodisponibilidade, também é necessária uma dose grande para se obter um efeito útil de diminuição de glucose. Assim, não é uma alternativa económica nem terapêutica.

Estão a ser desenvolvidas formulações pulmonares que podem proporcionar uma boa alternativa à injeção. No entanto, estas formulações requerem a utilização de um inalador e podem não ter boa adesão do doente se a técnica de distribuição for complicada.

Em consequência, é um objectivo da invenção proporcionar composições orais de distribuição de fármacos com estabilidade melhorada e início rápido de acção.

Outro objectivo da invenção é proporcionar métodos para armazenar fármacos e distribuir fármacos rapidamente.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Descrevem-se aqui formulações farmacológicas para distribuição sistémica de fármacos com estabilidade melhorada e início rápido de acção. As formulações podem ser administradas via administração bucal, administração sublingual, distribuição pulmonar, administração nasal, administração subcutânea, administração rectal, administração vaginal ou administração ocular. Nas formas de realização preferidas, as formulações são administradas de forma sublingual ou via injeção subcutânea. As formulações contêm um agente activo e um ou mais excipientes seleccionados para aumentar a velocidade de dissolução. Na forma de realização preferida, o fármaco é insulina e os excipientes incluem um quelante metálico, tal como EDTA, e um ácido, tal como ácido cítrico. Após a administração, estas formulações são rapidamente absorvidas pela mucosa oral quando administradas de forma sublingual e são rapidamente absorvidas na corrente sanguínea quando administradas por injeção subcutânea. Numa forma de realização, a composição está na forma de um pó seco. Noutra forma de realização, a composição toma a forma de uma película, hóstia, pastilha, cápsula ou comprimido. Numa terceira forma de realização, uma insulina em pó seco é misturada com um diluente contendo um veículo farmacologicamente aceitável, tal como água ou soro fisiológico, um quelante metálico, tal como

EDTA, e um ácido, tal como ácido cítrico. Também são descritos dispositivos para armazenar e misturar estas formulações.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A Figura 1a é uma representação esquemática da distribuição de uma composição de insulina em pó seco: a Figura 1b é uma representação esquemática da distribuição de uma composição em pastilha.

A Figura 2 é uma representação em perspectiva de um frasco contendo insulina em pó na tampa, separada por um vedante que pode ser rompido por rotação da tampa, para permitir que a insulina se misture com a solução de ácido cítrico-EDTA no frasco.

A Figura 3 é um gráfico de barras que mostra a percentagem de insulina total que foi transferida através de uma membrana (*i. e.*, um filtro) de peso molecular de corte 30000 na presença de quantidades variáveis de EDTA.

A Figura 4 é um gráfico do efeito do EDTA isoladamente ou em combinação com ácido cítrico, ácido clorídrico, ácido acético e ácido ascórbico na percentagem de insulina de baixo peso molecular (*i. e.*, monomérica).

As Figuras 5a-5d são gráficos da percentagem de insulina de baixo peso molecular na presença de HCl (Figura 5a), ácido ascórbico (Figura 5b), ácido cítrico (Figura 5c) e ácido acético (Figura 5d), isoladamente ou em combinação com EDTA, a pH 3,0 ou pH 7,0.

A Figura 6 é um gráfico do decréscimo da glucose no sangue após administração subcutânea de insulina em combinação com ácido cítrico e EDTA.

A Figura 7 é um gráfico da acumulação média de insulina (μU) ao longo do tempo (minutos) na câmara inferior de uma placa de membranas transwell inoculada com células epiteliais, que compara o efeito de uma formulação de insulina contendo EDTA ($\blacklozenge$) com uma sem EDTA ($\blacksquare$), com um controlo sem células ($\blacktriangle$).

DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DA INVENÇÃO

I. Composições

São aqui descritas formulações que incluem um agente activo, tal como insulina, e um ou mais excipientes, tal como um quelante e/ou agente solubilizador, que se dissolvem rapidamente em meio aquoso. Na forma de realização preferida, as formulações são adequadas para administração subcutânea ou sublingual. Estas formulações são rapidamente absorvidas através de superfícies mucosas (parentéricas, pulmonares, etc.) e através do tecido adiposo quando administradas subcutaneamente. Isto é conseguido por adição de excipientes, especialmente solubilizadores, tal como ácidos e quelantes metálicos.

Definições

Tal como aqui genericamente utilizado, um fármaco é considerado "altamente solúvel" quando a dosagem mais elevada é

solúvel em 250 mL ou menos de meio aquoso na gama de pH 1-7,5. O volume estimado de 250 mL deriva de protocolos de estudo típicos da bioequivalência (BE) que prescrevem a administração de um produto farmacêutico a voluntários humanos em jejum com um copo (cerca de 8 onças) de água. Um fármaco é considerado altamente solúvel quando se dissolve 90% ou mais de uma dose administrada, com base numa determinação de massa ou em comparação com uma dose de referência intravenosa. Pode medir-se a solubilidade pelo método de balões agitados ou titulação ou análise por um ensaio validado indicador da estabilidade.

Tal como aqui genericamente utilizado, uma formulação farmacológica de libertação imediata é considerada de "dissolução rápida" quando não menos de 85% da quantidade etiquetada da substância farmacológica se dissolve num período de 30 minutos, utilizando o Dispositivo I da Farmacopeia dos E.U.A. (USP) a 100 rpm (ou Dispositivo II a 50 rpm) num volume de 900 mL ou menos em cada um dos meios seguintes: (1) HCl 0,1 N ou Fluido Gástrico Simulado USP sem enzimas; (2) um tampão de pH 4,5; e (3) um tampão de pH 6,8 ou Fluido Intestinal Simulado USP sem enzimas.

Agentes Farmaceuticamente Activos

O agente activo é insulina. A insulina pode ser recombinante ou purificada. Na forma de realização preferida, a insulina é insulina humana. A insulina humana recombinante é disponibilizada por uma variedade de fontes.

As dosagens dos agentes activos dependem da sua biodisponibilidade e da doença ou distúrbio a ser tratado. A

insulina é geralmente incluída numa gama de dosagem de 12 até 2000 IU por dose humana. Assim, se a insulina tiver uma biodisponibilidade de 5-25%, a dose sistémica real distribuída a um indivíduo varia desde 3 a 100 IU. Para insulina com biodisponibilidade de apenas 2,5%, uma dose oral de 4000 IU irá distribuir uma dose sistemicamente disponível de 100 IU. Para insulina com biodisponibilidade muito maior, tal como 50% de biodisponibilidade, a distribuição de uma dose sistemicamente disponível de 3 IU requer uma dose oral de 6 IU.

Formulações

As composições contêm um ou mais excipientes. Na forma de realização preferida, pelo menos um dos excipientes é seleccionado para mascarar quaisquer cargas do agente activo. Isto facilita o transporte transmembranar do agente activo e, desse modo, aumenta o início da acção e biodisponibilidade do agente activo. Os excipientes também são seleccionados para formar composições que se dissolvem rapidamente em meio aquoso. Excipientes opcionais farmacêuticamente aceitáveis presentes nos comprimidos, esférulas, grânulos ou partículas que contêm fármaco incluem mas não se limitam a diluentes, aglutinantes, lubrificantes, agentes de desintegração, corantes, estabilizadores e tensioactivos.

Agentes solubilizadores

Na forma de realização preferida, um ou mais agentes solubilizadores são incluídos com o agente activo para promover uma dissolução rápida em meio aquoso. Agentes solubilizadores

adequados incluem agentes humedecedores, tal como polissorbatos e poloxâmeros, tensioactivos não iónicos e iónicos, ácidos e bases alimentares (e. g., bicarbonato de sódio) e álcoois, e sais de tampões para o controlo do pH. Ácidos adequados incluem ácido acético, ácido ascórbico, ácido cítrico e ácido clorídrico. Por exemplo, se o agente activo for insulina, um agente solubilizador preferido é ácido cítrico.

Quelantes

Na forma de realização preferida, um quelante metálico é misturado com o agente activo ou num revestimento que envolve o agente activo. O quelante pode ser iónico ou não iónico. Quelantes adequados incluem ácido etilenodiamino-tetracético (EDTA), ácido cítrico, dimercaprol (BAL), penicilamina, ácido algínico, clorela, coentro, ácido alfa lipóico, ácido dimercaptossuccínico (DMSA), sulfonato de dimercaptopropano (DMPS) e ácido oxálico. Na forma de realização preferida, o quelante é EDTA. O quelante liga-se ao agente activo através de ligações de hidrogénio, desse modo mascarando a carga do agente activo e facilitando o transporte transmembranar do agente activo. Por exemplo, quando o agente activo é insulina, além de mascarar a carga crê-se que o quelante afasta o zinco da insulina, desse modo favorecendo a forma monomérica da insulina relativamente à forma hexamérica e facilitando a absorção da insulina pelos tecidos que rodeiam o sítio da administração (e. g., mucosa ou tecido adiposo).

Iões podem fazer parte do agente activo, ser adicionados ao agente estabilizador, misturados com o quelante e/ou incluídos no revestimento. Iões representativos incluem zinco, cálcio,

ferro, manganês, magnésio, alumínio, cobalto, cobre ou qualquer ião de metal divalente ou metal de transição. O Zn^{2+} tem uma preferência de ligação mais forte para o EDTA do que o Ca^{2+} .

Diluentes e Agentes de Enchimento

Diluentes, também referidos aqui como agentes de enchimento, são tipicamente necessários para aumentar o volume de uma forma de dosagem sólida de modo a ser proporcionada uma dimensão prática para a compressão de comprimidos ou formação de esférulas e grânulos. Agentes de enchimento adequados incluem, mas não se limitam a, fosfato dicálcico di-hidratado, sulfato de cálcio, lactose, sacarose, manitol, sorbitol, celulose, celulose microcristalina, celulose em pó, caulino, cloreto de sódio, amido seco, amidos hidrolisados, amido pré-gelatinizado, dióxido de silício, óxido de titânio, silicato de alumínio e magnésio, carbonato de cálcio, açúcar compressível, esferas de açúcar, açúcar em pó (de pasteleiro), dextratos, dextrina, dextrose, fosfato de cálcio dibásico desidratado, palmitoestearato de glicerilo, carbonato de magnésio, óxido de magnésio, maltodextrina, polimetacrilatos, cloreto de potássio, talco e fosfato de cálcio tribásico.

Aglutinantes

Utilizam-se aglutinantes para conferir qualidades coesivas a uma formulação de dosagem sólida e, assim, assegurar que um comprimido, esférula ou grânulo permanece intacto após a formação das formas de dosagem. Materiais aglutinantes adequados incluem, mas não se limitam a, amido, amido pré-gelatinizado,

gelatina, açúcares (incluindo sacarose, glucose, dextrose, lactose e sorbitol), dextrina, maltodextrina, zeína, polietilenoglicol, ceras, gomas naturais e sintéticas, tal como acácia, goma de guar, tragacanto, alginato, alginato de sódio, celulosas, incluindo hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose sódica, hidroxipropilcelulose, hidroxietilcelulose, etilcelulose, metilcelulose e Veegum, óleo vegetal hydrogenado, Tipo I, silicato de alumínio e magnésio e polímeros sintéticos, tais como copolímeros de ácido acrílico e ácido metacrílico, carbómero, copolímeros do ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de aminoalquilo, ácido poliacrílico/ácido polimetacrílico e polivinilpirrolidona.

Lubrificantes

Utilizam-se lubrificantes para facilitar o fabrico de comprimidos. Exemplos de lubrificantes adequados incluem, mas não se limitam a, estearato de magnésio, estearato de cálcio, ácido esteárico, be-henato de glicerilo, monoestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerilo, óleo de rícino hydrogenado, óleo vegetal hydrogenado, tipo I, benzoato de sódio, laurilsulfato de sódio, estearil-fumarato de sódio, polietilenoglicol, talco, estearato de zinco e óleo mineral e óleo mineral leve.

Agentes de Desintegração

Utilizam-se agentes de desintegração para facilitar a desintegração ou "ruptura" da forma de dosagem após a

administração e geralmente incluem, mas não se limitam a, amido, amidoglicolato sódico, carboximetilamido sódico, metilcelulose, carboximetilcelulose de cálcio, carboximetilcelulose sódica, hidroxipropilcelulose, celulose microcristalina, dióxido de silício coloidal, croscarmelose sódica, amido pré-gelatinizado, argilas, celulose, celulose em pó, amido pré-gelatinizado, amidoglicolato sódico, alginato de sódio, ácido algínico, goma de guar, silicato de alumínio e magnésio, polacrilina potássica e polímeros reticulados, tal como PVP reticulado, crospovidona (POLYPLASDONE® XL da GAF Chemical Corp.).

Estabilizadores

Utilizam-se estabilizadores para inibir ou retardar reacções de decomposição do fármaco, que incluem, a título exemplificativo, reacções oxidativas. Podem utilizar-se alguns estabilizadores. Estabilizadores adequados incluem polissacáridos, tais como celulose e derivados de celulose, e álcoois simples, tal como glicerol; agentes bacteriostáticos, tais como fenol, m-cresol e metilparabeno; agentes isotónicos, tais como cloreto de sódio, glicerol e glucose; lecitinas, tais como, por exemplo, lecitinas naturais (e. g., lecitina da gema do ovo ou lecitina de soja) e lecitinas sintéticas ou semi-sintéticas (e. g., dimiristoíl-fosfatidilcolina, dipalmitoíl-fosfatidilcolina ou diestearoíl-fosfatidilcolina; ácidos fosfatídicos; fosfatidiletanolaminas; fosfatidilserinas, tal como diestearoíl-fosfatidilserina, dipalmitoíl-fosfatidilserina e diaraquidoíl-fosfatidilserina; fosfatidilgliceróis; fosfatidilinositóis; cardiolipinas; esfingomielinas, e detergentes sintéticos, tal como dioctanoíl-fosfatidilcolina e polietileno-polipropilenoglicol).

Outros estabilizadores adequados incluem acácia, albumina, ácido algínico, bentonite, carboximetilcelulose de cálcio, carboximetil-celulose sódica, ciclodextrinas, monoestearato de glicerilo, hidroxipropilcelulose, hidroxipropilmetil-celulose, silicato de alumínio e magnésio, propilenoglicol, alginato de propilenoglicol, alginato de sódio, cera branca, goma de xantano e cera amarela. Na forma de realização preferida, o agente é insulina e o estabilizador pode ser uma combinação de um ou mais polissacáridos e glicerol, agentes bacteriostáticos, agentes isotónicos, lecitinas ou detergentes sintéticos.

Tensioactivos

Os tensioactivos podem ser agentes com actividade de superfície aniónicos, catiónicos, anfotéricos ou não iónicos. Tensioactivos aniónicos adequados incluem mas não se limitam aos que contêm iões carboxilato, sulfonato e sulfato. Exemplos de tensioactivos aniónicos incluem alquilsulfonatos e alquilarilsulfonatos de cadeia longa de sódio, potássio, amónio, tal como dodecilbenzenossulfonato de sódio; dialquilsulfossuccinatos de sódio, tal como dodecilbenzenossulfonato de sódio; dialquilsulfossuccinatos de sódio, tal como bis-(2-etiltioxil)sulfossuccinato de sódio, e alquilsulfatos, tal como laurilsulfato de sódio. Tensioactivos catiónicos incluem mas não se limitam a compostos de amónio quaternário, tais como cloreto de benzalcónio, cloreto de benzetónio, brometo de cetrimónio, cloreto de estearildimetilbenzilamónio, amina de coco e polioxi-etileno. Exemplos de tensioactivos não iónicos incluem monoestearato de etilenoglicol, miristato de propilenoglicol, monoestearato de glicerilo, estearato de glicerilo, poligliceril-4-oleato,

acilato de sorbitano, acilato de sacarose, laurato de PEG-150, monolaurato de PEG-400, monolaurato de polioxietileno, polissorbatos, éter de octilfenilo de polioxietileno, éter de cetilo de PEG-1000, éter tridecílico de polioxietileno, éter de butilo de polipropilenoglicol, Poloxâmero[®] 401, estearoílmmonoiso-propanolamida e amida de sebo hidrogenado de polioxietileno. Exemplos de tensioactivos anfotéricos incluem N-dodecil- β -alanina de sódio, N-lauril- β -imino-dipropionato de sódio, miristoanfoacetato, laurilbetaína e lautilsulfobetaina.

Se desejado, os comprimidos, hóstias, películas, pastilhas, esférulas, grânulos ou partículas também podem conter uma quantidade muito pequena de substâncias auxiliares não tóxicas, como pigmentos, edulcorantes, agentes corantes e aromatizantes, agentes de tamponamento do pH ou conservantes.

Polímeros

A combinação ou copolimerização suficiente para conferir uma certa extensão de carácter hidrófilo pode ser útil para melhorar a capacidade de humedecimento dos materiais. Por exemplo, cerca de 5% até cerca de 20% dos monómeros podem ser monómeros hidrófilos. Para esta finalidade são habitualmente utilizados polímeros hidrófilos, tais como hidroxipropilcelulose (HPC), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), carboximetilcelulose (CMC). Também são adequados polímeros hidrófobos, tais como poliésteres e poliimidas. Os especialistas na técnica sabem que estes polímeros podem ser combinados com polianidridos para se obterem composições com diferentes perfis de libertação do fármaco e resistência mecânica. De um modo preferido, os polímeros são bioerodíveis, em que os pesos moleculares preferidos variam

desde 1000 a 15000 Da e, de um modo muito preferido, 2000 a 5000 Da.

Formulações

Os compostos activos (ou seus sais farmacêuticamente aceitáveis) podem ser administrados na forma de uma composição farmacêutica na qual o(s) composto(s) activo(s) está(estão) em mistura com um ou mais veículos, excipientes ou diluentes farmacêuticamente aceitáveis. Formas de dosagem adequadas incluem pós, películas, hóstias, pastilhas, cápsulas e comprimidos. As composições podem ser administradas numa variedade de modos, incluindo administração bucal, administração nasal, administração pulmonar, administração sublingual e administração subcutânea. Após a administração, a forma de dosagem dissolve-se rapidamente, libertando o fármaco ou formando pequenas partículas que contêm o fármaco, opcionalmente contendo um ou mais excipientes.

A formulação pode dissolver-se num período de tempo que varia desde 1 segundo a 3 minutos, 3 a 5 minutos, 5 a 8 minutos ou 8 a 12 minutos. O tempo de dissolução preferido é inferior a 30 segundos. De um modo preferido, o fármaco é rapidamente absorvido e transportado para o plasma, originando um início rápido da acção (de um modo preferido, começando num período de cerca de 5 minutos após a administração e atingindo o máximo aos cerca de 15-30 minutos após a administração).

Numa forma de realização preferida, a formulação é uma formulação sólida sublingual que contém um agente activo e, pelo menos, um agente solubilizador, juntamente com outros

excipientes comuns, como poli(álcool vinílico), glicerina, carboximetilcelulose (CMC) e, opcionalmente, poli(etileno-glicol) e água. Na forma de realização preferida, o agente activo é insulina e os agentes solubilizadores são ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e ácido cítrico. A composição sublingual pode tomar a forma de um pó seco, película em monocamada, bicamada ou tricamada, uma hóstia liofilizada, pastilha, cápsula ou um comprimido.

Numa segunda forma de realização preferida, a formulação toma uma forma adequada para injeção subcutânea. Nesta forma de realização, a formulação é preparada misturando um agente activo em pó com um diluente líquido que contém um veículo líquido farmacologicamente aceitável e um ou mais agentes solubilizadores. Na forma de realização preferida, o agente activo é insulina e o diluente contém soro fisiológico, EDTA e ácido cítrico. Antes da administração, o pó e o diluente são misturados para formar uma composição injectável.

Pó Seco

A composição pode estar na forma de um pó seco que contém o agente farmacologicamente activo e um ou mais excipiente(s). Tipicamente, a composição em pó seco está numa forma adequada para administração oral, nasal ou pulmonar. Vias típicas de administração oral incluem distribuição bucal e distribuição sublingual. De um modo preferido, a composição é distribuída de forma sublingual. O agente activo e o excipiente podem ser armazenados em conjunto ou separadamente. O agente activo e excipientes podem ser armazenados em conjunto se o agente activo for estável na presença dos excipientes. Alternativamente, podem

ser armazenados separadamente e depois ser misturados antes, durante ou depois de serem distribuídos na cavidade oral. O pó dissolve-se rapidamente por mistura com a saliva e distribui de forma eficaz o agente activo na circulação sistémica via absorção através do epitélio sublingual.

Os agentes activos e excipientes podem tomar a forma de partículas com dimensões iguais ou diferentes. Numa forma de realização, as partículas do excipiente são maiores do que as partículas do agente. Isto permitirá que as pequenas partículas do agente revistam a partícula maior, de modo que ambas as partículas são administradas simultaneamente. Tipicamente, o diâmetro médio das partículas para as partículas do agente é inferior ou igual a um décimo do diâmetro médio das partículas para as partículas do excipiente. Para distribuição sublingual, as partículas grandes têm geralmente diâmetros superiores a 8 μm , de um modo preferido, superiores a 20 μm . Os diâmetros médios das partículas grandes variam tipicamente desde 8 μm a 500 μm , de um modo preferido, desde 50 μm a 150 μm . As partículas pequenas têm geralmente um diâmetro que varia desde 1 nm a 9 μm , de um modo preferido, desde 100 nm a 400 nm. Para administração bucal e nasal, as partículas têm geralmente gamas de dimensões semelhantes às descritas para administração sublingual. Para administração pulmonar, as partículas grandes têm tipicamente um diâmetro médio que varia desde 1 μm a 10 μm , de um modo preferido, desde 2 μm a 5 μm , e as partículas pequenas têm tipicamente um diâmetro médio que varia desde 10 nm a 1 μm .

Se as partículas do excipiente tiverem geralmente a mesma dimensão, os diâmetros médios serão geralmente maiores do que 8 μm , de um modo preferido maiores do que 20 μm , com gamas de

dimensões típicas desde 8 μm a 500 μm e, de um modo preferido, desde 50 μm a 150 μm (para administração sublingual, bucal e nasal), e desde 1 μm a 10 μm , de um modo preferido, desde 2 μm a 5 μm (para administração pulmonar).

Opcionalmente, as partículas têm cargas opostas, de modo que as partículas do excipiente têm uma carga e as partículas do agente têm a carga oposta, de modo que as partículas sejam administradas simultaneamente. As partículas podem ser dotadas de carga por sopragem numa câmara formada por superfícies plásticas, que conferem carga às partículas. Podem utilizar-se duas câmaras com cargas opostas. As partículas com carga podem ser formadas utilizando uma solução acídica para preparar uma das partículas e uma solução básica para formar as outras partículas. Alternativamente, pode transferir-se carga por descarga de iões (e. g., utilizando um dispositivo estático ou antiestático). Se as partículas do agente e excipiente tiverem cargas opostas, podem ter o mesmo diâmetro médio ou diâmetros médios diferentes.

Numa forma de realização, os componentes são armazenados separadamente, em recipientes separados, uma embalagem tipo blister ou cápsulas, que são combinadas na altura da administração. Numa forma de realização, apresentada na Figura 2, o recipiente é uma ampola 20 em que a insulina está presente numa forma em pó na tampa 22, separada de uma solução 24 que contém ácido cítrico e EDTA. Na altura da administração, a insulina é adicionada à solução 24 e é administrada. Isto pode ser conseguido rompendo um vedante localizado na base 26 da tampa 22, por exemplo, feito de polietileno, que é rompido rodando a tampa 22.

Película

A composição pode estar na forma de uma película. A película é um material transparente ou opaco, flexível e fino. Espessuras típicas variam desde 0,01 a 2 mm. A película pode ter qualquer forma adequada, incluindo redonda, oval, rectangular ou quadrada. A película pode ser uma película em monocamada, bicamada ou tricamada. Na forma de realização preferida, a película é concebida para ser adequada para administração sublingual. A película em monocamada contém um agente activo e um ou mais excipientes. A película em bicamada contém um ou mais excipientes, tal como um agente solubilizador e/ou um quelante metálico, numa primeira camada e um agente activo na segunda camada. Esta configuração permite armazenar o agente activo separadamente dos excipientes e pode aumentar a estabilidade do agente activo e, opcionalmente, aumenta a estabilidade em armazenamento da composição em comparação com o caso em que os excipientes e o agente activo estão contidos numa única camada. A película em tricamada contém três camadas de película. Cada uma das camadas pode ser diferente, ou duas das camadas, tais como as camadas inferior e superior, podem ter substancialmente a mesma composição. Numa forma de realização, as camadas inferior e superior envolvem uma camada de núcleo que contém o agente activo. As camadas inferior e superior podem conter um ou mais excipientes, tais como um agente solubilizador e um quelante metálico. De um modo preferido, as camadas inferior e superior têm a mesma composição. Alternativamente, as camadas inferior e superior podem conter excipiente(s) diferente(s) ou diferentes quantidades do(s) mesmo(s) excipiente(s). A camada do núcleo contém tipicamente o agente activo, opcionalmente com um ou mais excipientes.

Na forma de realização preferida, a película é uma película em bicamada que contém EDTA e ácido cítrico numa camada e insulina na segunda camada. Cada camada pode conter excipientes adicionais, tais como glicerina, álcool poli-vinílico, carboximetilcelulose e, opcionalmente, PEG (como PEG 400 ou PEG 1600). Numa forma de realização, uma terceira camada pode estar localizada entre a camada do agente activo e a camada que contém os outros ingredientes, para proteger suplementarmente o agente activo de ingredientes que causam degradação localizados na outra camada durante o armazenamento. Materiais adequados para a camada protectora incluem carboximetilcelulose sódica, cera de carnaúba, acetatoftalato de celulose, álcool cetílico, açúcar de pasteleiro, etilcelulose, gelatina, hidroxietilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, glucose líquida, maltodextrina, metilcelulose, cera micro-cristalina, polimetacrilatos, álcool polivinílico, goma-laca, sacarose, talco, dióxido de titânio e zeína.

Por alteração da composição dos excipientes, a película pode ser concebida para se dissolver rapidamente (menos de 30 segundos) ou lentamente (até 15 minutos) para se obter o desejado perfil de absorção e efeito subsequente. A película pode dissolver-se num período de tempo que varia desde 3 a 5 minutos, 5 a 8 minutos ou 8 a 12 minutos. De um modo preferido, a película dissolve-se num período de tempo que varia desde 15 segundos a 2 minutos.

Pastilha, Comprimido, Cápsula ou Hóstia

Noutra forma de realização, a composição toma a forma de uma pastilha, comprimido, cápsula ou hóstia que contém o agente activo e um ou mais excipientes, tais como quelantes, agentes estabilizadores, agentes solubilizadores.

Pastilha

O núcleo da pastilha é composta por um gel sólido ou uma hóstia liofilizada que contém um agente activo no núcleo. Opcionalmente, o núcleo também contém um agente estabilizador, opcionalmente com um ou mais excipientes adicionais. Opcionalmente, as superfícies superior e inferior do núcleo da pastilha são revestidas com um quelante, tal como EDTA sódico. Alternativamente, o agente quelante pode ser misturado com o agente activo no núcleo. Na forma de realização preferida, o núcleo contém alginato (de um modo preferido, alginato estabilizado com cálcio), ácido cítrico, EDTA e insulina. A pastilha cobre uma grande área superficial com uma camada fina e pode tomar qualquer forma adequada. Tipicamente tem forma redonda ou oval. Em geral, a pastilha tem diâmetro e espessura aproximadamente iguais ao diâmetro e espessura de uma moeda. Numa forma de realização, a pastilha contém glicerina.

Comprimido

Numa forma de realização, o comprimido é um pó homogéneo comprimido de todos os ingredientes. Noutra forma de realização, configuram-se num comprimido ingredientes inactivos, tais como o

agente de enchimento e o agente de ligação, e um ou mais excipientes, incluindo os agentes solubilizadores. O agente activo juntamente com o agente de enchimento, agente de ligação e outros excipientes são configurados noutro comprimido. Em seguida, os dois comprimidos são reunidos e revestidos para formar um único comprimido. Opcionalmente, o comprimido é revestido com um revestimento entérico.

Hóstia

A composição pode estar na forma de uma hóstia. A hóstia é uma forma de dosagem sólida plana. Espessuras típicas variam desde 0,1 mm a 1,5 cm. Diâmetros típicos variam desde 0,2 a 5 cm. A hóstia pode tomar qualquer forma adequada, incluindo redonda, oval, rectangular ou quadrada. A hóstia pode consistir numa monocamada, bicamada ou tricamada. Na forma de realização preferida, a hóstia é concebida para ser adequada para administração sublingual. A hóstia em monocamada contém um agente activo e um ou mais excipientes. A hóstia em bicamada contém um ou mais excipientes, tal como um agente solubilizador e/ou um quelante metálico, numa primeira camada e um agente activo na segunda camada. Esta configuração permite armazenar o agente activo separadamente dos excipientes e pode aumentar a estabilidade do agente activo e, opcionalmente, aumenta a estabilidade em armazenamento da composição em comparação com o caso em que os excipientes e o agente activo estão contidos numa única camada. A hóstia em tricamada contém três camadas. Cada uma das camadas pode ser diferente, ou duas das camadas, tais como as camadas inferior e superior, podem ter substancialmente a mesma composição. Numa forma de realização, as camadas inferior e superior envolvem uma camada de núcleo que contém o

agente activo. As camadas inferior e superior podem conter um ou mais excipientes, tais como um agente solubilizador e um quelante metálico. De um modo preferido, as camadas inferior e superior têm a mesma composição. Alternativamente, as camadas inferior e superior podem conter excipiente(s) diferente(s) ou diferentes quantidades do(s) mesmo(s) excipiente(s). A camada do núcleo contém tipicamente o agente activo, opcionalmente com um ou mais excipientes.

Cápsulas

Outra forma de dosagem adequada é uma cápsula. A cápsula contém um invólucro exterior que se dissolve rapidamente, que é tipicamente composto por açúcares, amidos, polímeros (e outros materiais farmacêuticos adequados). A cápsula contém pós ou grânulos de agente e excipiente. A cápsula é concebida para libertar rapidamente pós ou pequenos grânulos de dissolução rápida na cavidade oral após a administração.

Formulações para Injecção Subcutânea

A formulação pode ser uma formulação injectável adequada para injecção subcutânea. A formulação injectável contém o agente activo, um quelante, um agente solubilizador e soro fisiológico. Numa forma de realização preferida, a formulação injectável contém insulina, EDTA, ácido cítrico e soro fisiológico.

II. Métodos de preparação das formulações

As composições farmacêuticas podem ser formuladas de um modo convencional utilizando um ou mais veículos fisiologicamente aceitáveis compreendendo excipientes e auxiliares que facilitam o processamento dos compostos activos em preparações que podem ser utilizadas farmaceuticamente. A formulação farmacológica é discutida, por exemplo, em Hoover, John E., "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, Pensilvânia (1975) e Lieberman, H.A., e Lachman, L., Editores, "Pharmaceutical Dosage Forms", Marcel Decker, Nova Iorque, N.I. (1980). A formulação apropriada é dependente da via de administração escolhida.

Os compostos podem ser complexados com outros agentes quando são formulados na forma de dosagem desejada. Se for solúvel em água, esse complexo formulado pode então ser formulado num tampão apropriado, por exemplo, soro fisiológico tamponado com fosfato ou outras soluções fisiologicamente compatíveis. Alternativamente, se o complexo resultante tiver fraca solubilidade em solventes aquosos, pode então ser formulado com um tensioactivo não iónico, tal como TWEEN™ ou polietilenoglicol.

Descrevem-se abaixo métodos preferidos para preparar as películas, comprimidos, hóstias e formulações injectáveis subcutâneas.

Películas

A película em monocamada é tipicamente formada suspendendo primeiramente ingredientes inactivos e o agente activo em água. A suspensão é transferida, por derramamento ou pipetagem, para uma folha ou molde. Depois, a suspensão é seca por liofilização, para remover a água e formar uma película. As películas podem ser preparadas como uma folha grande e cortados num tamanho desejado, com base na dosagem desejada. Alternativamente, podem preparar-se formulações contendo uma única dose formando a película utilizando um molde. As películas em bicamada e tricamada são geralmente formadas do mesmo modo da película em monocamada com a excepção de cada camada conter apenas certos ingredientes (e. g., uma camada contém o agente activo e a outra camada contém um ou mais excipientes).

Comprimidos

Preparam-se comprimidos utilizando uma máquina de compressão tradicional com punções planos. Os ingredientes activos secos são combinados com uma quantidade apropriada de um excipiente de enchimento inerte, tal como um excipiente agente de ligação, juntamente com outros excipientes adequados. Após mistura extensa, uma quantidade predeterminada da mistura é colocada numa prensa de comprimidos e forma-se um comprimido. A espessura do comprimido é determinada pela quantidade dos ingredientes. A compressão deve ser suficiente para manter os ingredientes agregados durante a administração da dose ao mesmo tempo que permite penetração de água no comprimido para uma fácil dissolução na boca.

Hóstias

A hóstia pode ser formada por compressão de um pó, liofilização de um bolo ou evaporação de uma suspensão, emulsão ou gel (e. g., um hidrogel). Também pode utilizar-se uma máquina de compressão para preparar hóstias utilizando um punção maior e mais plano. Alternativamente, os materiais secos misturados podem ser aplanados ou comprimidos entre cilindros para configurar o pó numa folha que pode ser cortada num tamanho apropriado para poder ser inserido na boca, de um modo preferido, debaixo da língua. A dosagem das hóstias pode ser determinada por métodos padrão, tais como alterando a concentração do agente activo no pó e mantendo uniforme o tamanho da hóstia. Alternativamente, pode manter-se a concentração do pó e aumentar a área superficial da hóstia para se obterem doses mais elevadas, ou diminui-la para diminuir a dosagem. Numa forma de realização, forma-se a hóstia suspendendo o agente activo, agentes solubilizadores, agente de ligação ou outros excipientes num solvente, tal como água. Uma quantidade predeterminada da suspensão é colocada em cavidades de um molde de plástico e é liofilizada nas cavidades, para remover a água e formar uma hóstia. Alternativamente, pode forma-se uma hóstia em bicamada com um ou mais excipientes (e. g., agente solubilizador e/ou agente de ligação) numa camada e o agente activo, juntamente com o agente de ligação ou outros componentes inertes, na segunda camada.

Também podem preparar-se hóstias combinando os pós secos em solução aquosa, pipetagem da quantidade apropriada da solução para moldes, congelação instantânea e liofilização do material. Com este processo forma-se uma hóstia muito leve que se dissolve

muito rapidamente e requer pouco material de enchimento e ligação.

Formulações para Injecção Subcutânea

Na forma de realização preferida, a formulação injectável subcutânea é produzida misturando soro fisiológico, ácido cítrico e EDTA para formar uma solução e esterilizando a solução (referida como o "diluyente"). A insulina é adicionada separadamente a água esterilizada para formar uma solução e é filtrada, e uma quantidade designada é colocada em cada um de alguns frascos separados de injecção esterilizadas. A solução de insulina é liofilizada para formar um pó e deve ser armazenada separadamente do diluyente, para reter a sua estabilidade. Antes da administração, o diluyente é adicionado ao frasco de injecção de insulina. Depois da quantidade predeterminada de insulina ser injectada subcutaneamente no doente, a solução remanescente de insulina pode ser armazenada, de um modo preferido, por refrigeração. A solução de insulina deve permanecer estável durante, pelo menos, uma semana.

III. Métodos de Utilização das Formulações

As formulações podem ser administradas de uma variedade de modos, incluindo administração bucal, administração nasal, administração pulmonar, administração sublingual, administração subcutânea, administração rectal, administração vaginal ou administração ocular. Após a administração, a forma de dosagem dissolve-se rapidamente, libertando o fármaco ou formando pequenas partículas que contêm o fármaco, opcionalmente contendo

um ou mais excipientes. A formulação é concebida para ser rapidamente absorvida e transportada para o plasma para distribuição sistémica.

As formulações que contêm insulina como o agente activo podem ser administradas a um doente diabético do tipo 1 ou tipo 2 antes ou durante uma refeição. A formulação é tipicamente administrada de forma sublingual ou por injeção subcutânea. A formulação também pode ser administrada por administração bucal, nasal ou pulmonar. Devido à absorção rápida, as composições podem interromper a conversão de glicogénio em glucose no fígado, desse modo prevenindo hiperglicemia, que é a principal causa de complicações devido a diabetes e o primeiro sintoma de diabetes do tipo 2. Como observado no Exemplo 2, as formulações sublinguais de insulina distribuem insulina na corrente sanguínea do doente rapidamente, originando um início rápido da acção (começando aos cerca de 5 minutos após a administração e atingindo o máximo aos cerca de 15-30 minutos após a administração). Em contraste, as injeções subcutâneas comuns presentemente disponíveis de insulina humana devem ser administradas cerca de uma hora antes da refeição, proporcionando um efeito inferior ao desejado, porque a insulina é absorvida demasiado lentamente para interromper a produção de glucose no fígado. Adicionalmente, se forem administradas suficientemente cedo na progressão da doença, as composições sublinguais ou subcutâneas de insulina podem conseguir abrandar ou interromper a progressão de diabetes do tipo 2.

A Figura 1A é uma representação esquemática da administração da composição preferida em pó seco, *i. e.*, insulina, alginato, ácido cítrico e EDTA em pó. Como mostrado na Figura 1A, o pó é composto por um pó sólido seco de ácido cítrico, insulina e EDTA

em pó. Utiliza-se um dispositivo para distribuir uma dose unitária de pó seco debaixo da língua, de modo que a dose é dispersa uniformemente em toda a região sublingual da cavidade oral. O EDTA dissódico dissolve-se rapidamente na saliva. O ácido cítrico solubiliza a insulina, permitindo que fique em solução próximo do EDTA. Em seguida, o EDTA procede à quelação do zinco presente na insulina, desse modo libertando os seus iões sódio e afastando o zinco da insulina. Isto faz com que a insulina adopte a sua forma dimérica e monomérica e evita a reunião em hexâmeros. A forma monomérica tem um peso molecular que é inferior a um sexto do peso molecular da forma hexamérica, desse modo aumentando acentuadamente a velocidade e quantidade de absorção de insulina. Os dímeros e monómeros estão em equilíbrio. Assim, à medida que monómeros de insulina são absorvidos através da membrana epitelial, dímeros adicionais separam-se para formar mais monómeros.

Ocorre um processo semelhante se um agente de volume for incluído no pó de fármaco. Por exemplo, se for utilizado alginato como agente de volume para a insulina, o cálcio impregnado no alginato sofre quelação pelo EDTA, removendo-o da matriz de gel. Isto desestabiliza a matriz, que liberta a insulina para a saliva local, onde a insulina está agora próxima do EDTA. O EDTA identifica a zinco-insulina próxima e substitui o seu cálcio pelo zinco, para o qual tem maior afinidade. Este processo liberta a insulina hexamérica na sua forma dimérica, da qual uma porção se separa em monómeros. Uma vez que estas duas formas existem em equilíbrio dirigido pela concentração, à medida que os monómeros são absorvidos são criados mais monómeros. Estes pequenos polipéptidos de ~5800 Da estão agora prontos para absorção epitelial. Uma vez que o epitélio é relativamente fino na região sublingual e vasos sanguíneos estão

facilmente disponíveis, a absorção sistémica é rápida e eficiente. Tanto quanto o EDTA e/ou ácido cítrico se ligam à insulina por ligações de hidrogénio, mascaram a carga da insulina, facilitando o seu transporte transmembranar e, assim, aumentando o início da acção e biodisponibilidade da insulina. Uma vez que o epitélio é relativamente fino na região sublingual e vasos sanguíneos estão facilmente disponíveis, a absorção sistémica é rápida e eficiente, demorando desde 1 segundo a 15 minutos após a administração. O pó pode dissolver-se num período de tempo que varia desde 1 segundo a 3 minutos, 3 a 5 minutos, 5 a 8 minutos ou 8 a 12 minutos. O tempo de dissolução preferido é inferior a 5 minutos.

Como descrito na Figura 1B, antes de uma refeição, uma pastilha é inserida debaixo da língua e a língua relaxa sobre a pastilha 10. A pastilha pode ser substituída por uma película, hóstia, comprimido ou cápsula. O EDTA sódico é dissolvido a partir das superfícies 12 para a saliva local. A superfície 12 da pastilha é humedecida pela remoção da camada de EDTA, proporcionando o cálcio impregnado no gel 10 de acesso à superfície 12. O EDTA é um quelante de cálcio e remove o cálcio da matriz do gel, removendo a sua estrutura de suporte. Com o cálcio removido, o alginato sofre liquefacção e liberta a insulina hexamérica com zinco para a saliva. O EDTA é atraído para o zinco em proximidade e remove o zinco da insulina (para o qual tem maior afinidade), libertando a insulina hexamérica na sua forma dimérica, da qual uma porção se separa em monómeros. Uma vez que os monómeros e dímeros existem em equilíbrio dirigido pela concentração, à medida que são absorvidos monómeros são criados mais monómeros.

IV. Kit

O agente activo pode ser armazenado num recipiente e os excipientes podem ser armazenados num segundo recipiente. Imediatamente antes da administração mistura-se o conteúdo dos dois recipientes.

Como ilustrado na Figura 2, o kit pode conter um frasco contendo insulina em pó na tampa (22), separada por um vedante (26) que pode ser rompido por rotação da tampa para permitir que a insulina se misture com a solução de excipiente, e. g., ácido cítrico-EDTA, presente no frasco (24).

Os métodos e composições descritos acima serão suplementarmente compreendidos com referência aos seguintes exemplos não limitativos.

Exemplos

Exemplo 1: Efeito de Soluções de Insulina Contendo Diferentes Concentrações de EDTA na Conversão da Insulina de uma Forma Hexamérica em Monómeros/Dímeros

Materiais

Nesta experiência utilizaram-se Insulina recombinante humana (Akzo-Nobel), ácido Cítrico e EDTA dissódico em água destilada. Utilizaram-se microtubos Nanosep com PM de corte de 30000 (Pall Scientific) para separar os hexâmeros (PM 36000) dos dímeros/monómeros (PM 6-12000) nas soluções de insulina. A análise foi realizada por HPLC utilizando um módulo de separação

Waters 2695 equipado com uma coluna Symmetry 300™ C₄ 5 µm (Waters Corp., Milford, MA, N° 186000285) e um detector por sistema de fotodiodos (a 220 nm de absorvância). Utilizou-se um método com gradiente (ACN 25-32% em água, TFA 0,05%) para separar a insulina dos outros ingredientes.

Métodos

Dissolveu-se Insulina recombinante humana em Ácido cítrico 2 mg/mL para formar uma solução de 1 mg/mL, e subsequentemente pipetaram-se 1,5 mL desta solução para tubos de ensaio. Adicionou-se EDTA a cada tubo para se obter uma concentração de 0, 1, 2, 3 ou 4 mg de EDTA/mL. Ao topo dos tubos Nanosep adicionaram-se 0,5 mL dos ingredientes combinados e os tubos foram submetidos a rotação a 10000 rpm durante 10 minutos numa microcentrifuga (Fisher Scientific). Testou-se a insulina antes e após a centrifugação e determinou-se a percentagem recuperada no filtrado dividindo a quantidade da insulina que passou pelo filtro pela quantidade inicial colocada no topo.

Esquema

Tabela 1: Quatro condições experimentais e controle

Formulação N°	Insulina (mg/mL)	EDTA (mg/mL)	Ácido cítrico (mg/mL)
0	1	0	2
1	1	1	2
2	1	2	2
3	1	3	2
4	1	4	2

Resultados

Como mostrado na Figura 3, quantidades crescentes de EDTA originaram maiores concentrações de monómeros/dímeros relativamente ao hexâmero na solução de insulina. Cerca de 8% da insulina total passou pelo filtro quando não estava presente EDTA (controlo "0"). A quantidade de monómeros/dímeros recuperados no filtrado aumentou para 20% após a adição de EDTA, com um efeito máximo a 2 mg/mL. A adição suplementar de EDTA não aumentou o efeito. Assim, a adição de EDTA a uma solução de insulina (na presença de ácido cítrico) aumenta a concentração de monómeros/dímeros.

Exemplo 2: Efeito da Administração de Formulação Sublingual de Insulina em Pó Seco nos níveis de insulina e glucose de um Doente

Mediram-se os níveis de insulina e glucose no sangue após uma única administração sublingual de uma formulação de insulina em pó seco num doente diabético do Tipo 1 do sexo masculino com 35 anos de idade. A dose administrada ao doente continha 6 mg de insulina, 4 mg de ácido cítrico e 4 mg de EDTA. A insulina na formulação perfez aproximadamente 28 IU/mg.

O doente jejuou durante a noite e chegou à clínica de manhã cedo. Ligou-se ao doente uma linha IV de infusão de soro fisiológico. Instruiu-se o doente para abrir a sua boca e tocar a sua língua no céu-da-boca, tendo-se aspergido a formulação em pó seco debaixo da sua língua. Depois foi instruído para baixar a sua língua, fechar a boca e não engolir durante um minuto.

Mediu-se a glucose no sangue aos cinco minutos antes da aplicação da formulação sublingual de insulina. Após a administração da formulação de insulina monitorizou-se a glucose no sangue em tempo real utilizando tiras de glucose e recolheram-se amostras de sangue de acordo com os tempos listados nas Tabelas 2 e 3, para uma determinação laboratorial da concentração de glucose no sangue pelo método de glucose oxidase e da concentração de insulina no sangue por um ensaio imunoabsorvente ligado a enzima (ELISA) LINKO.

Resultados e Discussão

Os dados obtidos utilizando o método de tiras de glucose e método de glucose oxidase estão listados na Tabela 2.

Tabela 2: Concentrações de Glucose ao longo do Tempo

Tempo (minutos)	Método de Tiras Concentração de glucose (mg/dL)	Método de Oxidase Concentração de glucose (mg/dL)
-5	N/A	99,5
3	84	96,3
7	83	87,0
10	75	90,1
15	70	83,2
20	73	78,3
30	63	75,5
45	59	68,0

(continuação)

Tempo (minutos)	Método de Tiras Concentração de glucose (mg/dL)	Método de Oxidase Concentração de glucose (mg/dL)
60	46	61,8
61	42	60,2
62	42	57,7
80 (ingestão de glucose)	33	53,7
90	136	143
120	97	122,0
145	N/A	122,0
180	N/A	80,5

Pelo método de tiras de glucose em tempo real, a concentração de glucose no sangue diminuiu de forma rápida e precipitada, começando aos 10-15 minutos após a administração. À uma hora pós-administração, a glucose no sangue aparentou estar perigosamente baixa (46 mg/dL pelo método de tiras). Nesta altura o protocolo inicial foi modificado e recolheram-se leituras de glucose no sangue mais frequentemente. Aos 80 minutos pós-administração, a glucose no sangue do doente era 33 mg/dL pelo método de tiras, e administrou-se oralmente ao doente uma formulação líquida de glucose. Esta intervenção de administração de glucose foi eficaz no aumento dos níveis de glucose no sangue do doente para a gama normal (95-140 mg/dL) pelo método de tiras. Em contraste com esta dosagem oral, uma injeção subcutânea de insulina humana começa tipicamente a diminuir a glucose no sangue cerca de 30 minutos após a

administração e produz um efeito máximo entre os 90 minutos e as 3 horas após a administração.

Como observado com base nos dados da Tabela 2, os dados obtidos utilizando o teste mais rigoroso de glucose no sangue, o método de oxidase, reflectiram o método de tiras em tempo real mas foram mais elevados em cerca de 12-20 mg/dL numa base absoluta.

A Tabela 3 lista as concentrações de insulina no sangue ao longo do tempo obtidas pelo teste de ELISA LINKO.

Tabela 3: Concentrações de insulina ao longo do tempo

Tempo (minutos)	Concentração de insulina (μU/mL)
-5	16,9
3	13,9
7	22,7
10	21
15	22,95
20	23,4
30	19,7
45	21,2
60	21,9
80 (ingestão de glucose)	21,1
120	18,9
180	13,9

Como observado com base nos dados listados na Tabela 3, a concentração de insulina no sangue aumentou muito rapidamente, começando aos 7 minutos após a administração e atingindo um efeito máximo entre os 15 e 20 minutos após a administração. Em contraste, uma injeção subcutânea de insulina humana atinge uma concentração máxima no sangue cerca de duas horas após a administração. Assim, a formulação sublingual em pó seco é cerca de 6 até 8 vezes mais rápida do que uma injeção subcutânea de insulina humana.

Exemplo 3: Determinação do Efeito do EDTA e Vários Ácidos na Dimensão das Partículas de Insulina

Conduziu-se um estudo para determinar o efeito do EDTA, um quelante, em combinação com vários ácidos: ácido acético, ácido clorídrico, ácido ascórbico e ácido cítrico, na dimensão das partículas de insulina. Os controlos incluíram insulina com EDTA e sem ácido e insulina com ácido e sem EDTA.

Utilizando as mesmas técnicas descritas no exemplo 1, dissolveu-se insulina (1 mg/mL) num ácido de alimentos, adicionou-se EDTA, colocou-se a mistura no topo de um filtro com PM de corte 30000 num microtubo e depois submeteu-se o sistema a centrifugação durante 10 minutos a 10000 rpm. Cada mistura foi testada a pH 3 (sem tampão) e pH 7,0 (com tampão de fosfato). Calcularam-se os resultados em percentagem de insulina recuperada no filtrado comparativamente à quantidade de partida (percentagem).

Os resultados estão representados graficamente nas Figuras 4 e 5a-d. Os resultados mostram que a combinação de EDTA e ácido

cítrico produz uma quantidade significativamente maior de insulina de baixo peso molecular (*i. e.*, monomérica em vez de hexamérica).

Exemplo 4: Administração Subcutânea de EDTA Insulina a Porcos

A formulação de insulina com EDTA-ácido cítrico foi administrada a porcos por injeção subcutânea, para comparar o efeito do EDTA e ácido cítrico na insulina administrada por administração subcutânea com insulina humana normal (hexamérica). A insulina foi administrada numa dosagem de 25 U/mL, 2 mg de EDTA/mL, 2 mg de ácido cítrico/mL. Administrou-se uma dose de insulina de 0,125 U/kg. Comparou-se o efeito na glucose no sangue com o efeito de 100 unidades de insulina humana comum, dose 0,125 U/kg.

Normalmente, a insulina humana normal produz o seu nível mais baixo de glucose aos cerca de 120 minutos após a administração, com níveis que regressam à referência durante um período de seis horas. Em contraste, como mostrado pelos resultados da Figura 6, a formulação de insulina com EDTA-ácido cítrico produz um decréscimo mais rápido e significativamente maior da glucose no sangue.

Exemplo 5: Determinação do Efeito do EDTA na Absorção de Insulina Através de uma Membrana Sobre a Qual Está Disposta uma Monocamada de Células Epiteliais

Conduziu-se um estudo para demonstrar o efeito do EDTA na absorção através de uma membrana sobre a qual está disposta uma monocamada de células epiteliais.

Misturaram-se duas soluções de soro fisiológico contendo 1 mg/mL de insulina, 2 mg/mL de EDTA e 2 mg/mL de ácido cítrico ("solução 1") ou 1 mg/mL de insulina e 2 mg/mL de ácido cítrico ("solução 2"). A solução de controlo continha apenas EDTA e ácido cítrico. Culturas de linhas celulares epiteliais imortalizadas foram inoculadas em membranas Transwell. Quando as células cresceram até à confluência, no instante zero, o fluido das câmaras superiores das placas Transwell foi substituído por 0,5 mL de solução de insulina (*i. e.*, solução 1 ou solução 2). Testaram-se simultaneamente duas placas com solução 1, duas placas com solução 2 e uma placa com a solução de controlo (sem células). A câmara inferior de cada placa continha 1,5 mL de soro fisiológico. Em cada instante, 100 µL de fluido da câmara inferior foram removidos e analisados por Ensaio Imunoabsorvente Ligado a Enzima (ELISA). Adicionaram-se à câmara inferior 100 µL de soro fisiológico para manter um volume constante de 1,5 mL ao longo do estudo.

A quantidade de insulina removida da câmara inferior em cada instante foi adicionada à quantidade removida no(s) instante(s) anterior(es), para se determinar a quantidade cumulativa de insulina recuperada na câmara inferior. Estes dados estão apresentados na Figura 7.

As células foram coradas para verificar a viabilidade antes e depois da experiência. Não se observaram diferenças estatísticas da viabilidade celular para cada uma das placas.

Apresenta-se na Figura 7 a insulina média acumulada na câmara inferior (câmara receptora) ao longo do tempo. Como mostrado na Figura 7, a solução 1, que continha EDTA, atravessou a monocamada de células epiteliais e atravessou a membrana mais eficazmente do que a solução 2, que não continha EDTA.

Lisboa, 7 de Setembro de 2009

REIVINDICAÇÕES

1. Composição compreendendo uma dose terapeuticamente eficaz de insulina monomérica ou dimérica, um agente solubilizador seleccionado do grupo consistindo em ácido acético, ácido ascórbico e ácido cítrico e um quelante metálico de zinco, numa forma adequada para administração sublingual ou subcutânea.
2. Composição da reivindicação 1, em que o quelante é seleccionado do grupo consistindo em ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), dimercaprol (BAL), penicilamina, ácido algínico, Clorela, Coentro, Ácido Alfa Lipóico e Ácido Dimercaptossuccínico (DMSA).
3. Composição da reivindicação 2, em que o quelante é ácido etilenodiaminotetracético (EDTA).
4. Composição da reivindicação 1, em que o ácido está presente numa quantidade eficaz para mascarar cargas da insulina monomérica ou dimérica.
5. Composição da reivindicação 1, em que o ácido é ácido cítrico.
6. Composição da reivindicação 1 numa forma seleccionada do grupo consistindo em pós secos, comprimidos, hóstias, películas, pastilhas e cápsulas.

7. Composição da reivindicação 6, em que a composição toma a forma de uma película ou hóstia em tricamada adequada para distribuição sublingual.
8. Composição da reivindicação 1 numa forma adequada para distribuição sublingual.
9. Utilização de uma quantidade eficaz de insulina monomérica ou dimérica, um ácido que aumenta a solubilidade e absorção da insulina monomérica ou dimérica seleccionado do grupo consistindo em ácido acético, ácido ascórbico e ácido cítrico e um quelante metálico de zinco para o fabrico de um medicamento adequado para administração sublingual ou injeção subcutânea para o tratamento de diabetes.
10. Utilização da reivindicação 9, em que o quelante é seleccionado do grupo consistindo em ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), dimercaprol (BAL), penicilamina, ácido algínico, Clorela, Coentro, Ácido Alfa Lipóico e Ácido Dimercaptossuccínico (DMSA).
11. Utilização da reivindicação 10, em que o quelante é ácido etilenodiaminotetracético (EDTA).
12. Utilização da reivindicação 9, em que o ácido está presente numa quantidade eficaz para mascarar cargas da insulina.
13. Utilização da reivindicação 9, em que o ácido é ácido cítrico.

14. Utilização da reivindicação 9, em que a composição está na forma seleccionada do grupo que consiste em pós secos, comprimidos, hóstias, películas, pastilhas e cápsulas.
15. Composição da reivindicação 1 numa forma adequada para administração subcutânea, em que o agente é insulina monomérica ou dimérica, em que o quelante é ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e em que o ácido é ácido cítrico.
16. Composição da reivindicação 1 que também compreende soro fisiológico.
17. Composição da reivindicação 15, em que a razão entre insulina monomérica:EDTA:ácido cítrico é 1:2:2 (mg/mL).

Lisboa, 7 de Setembro de 2009

FIG. 1A

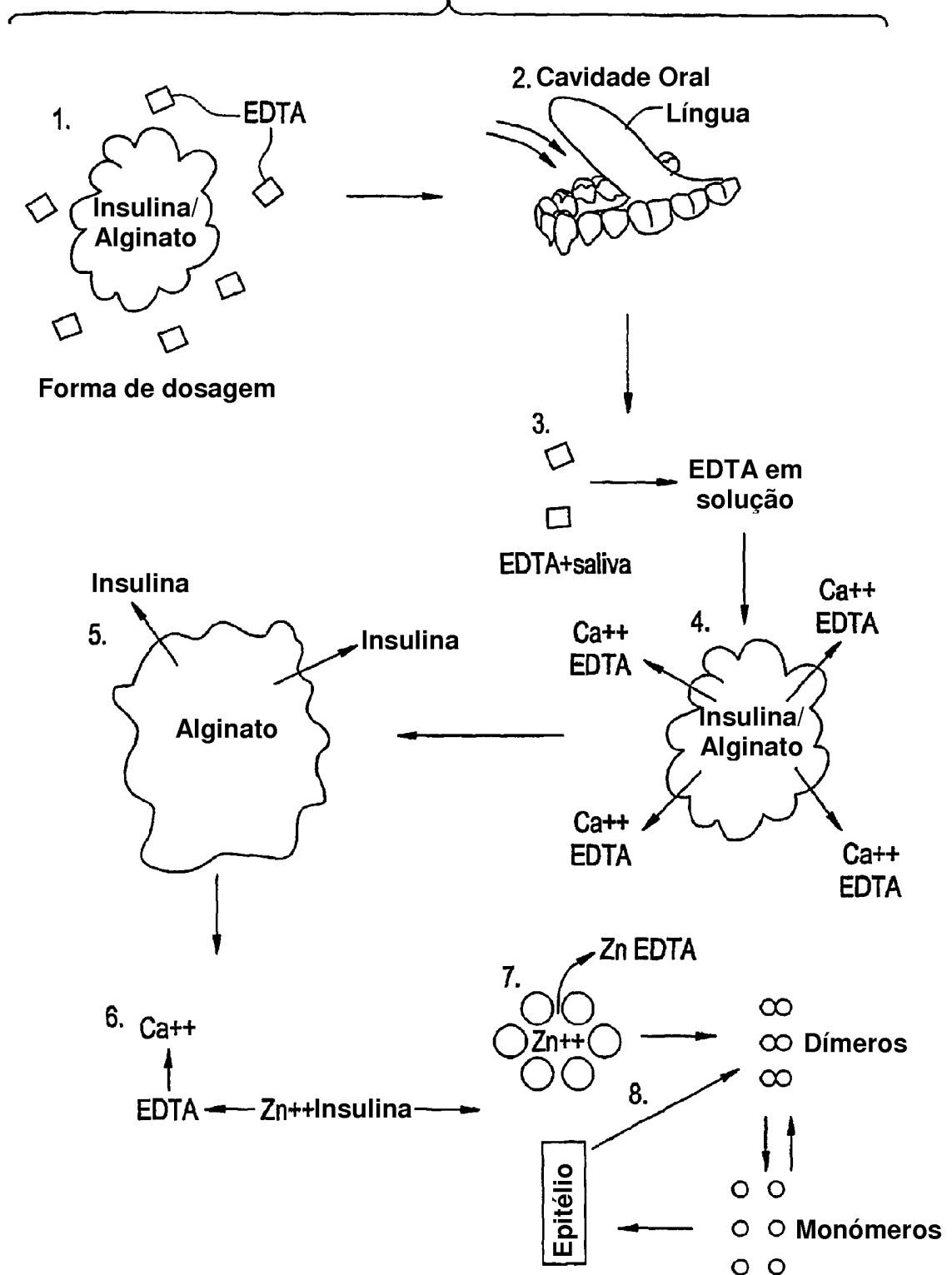


FIG. 1B

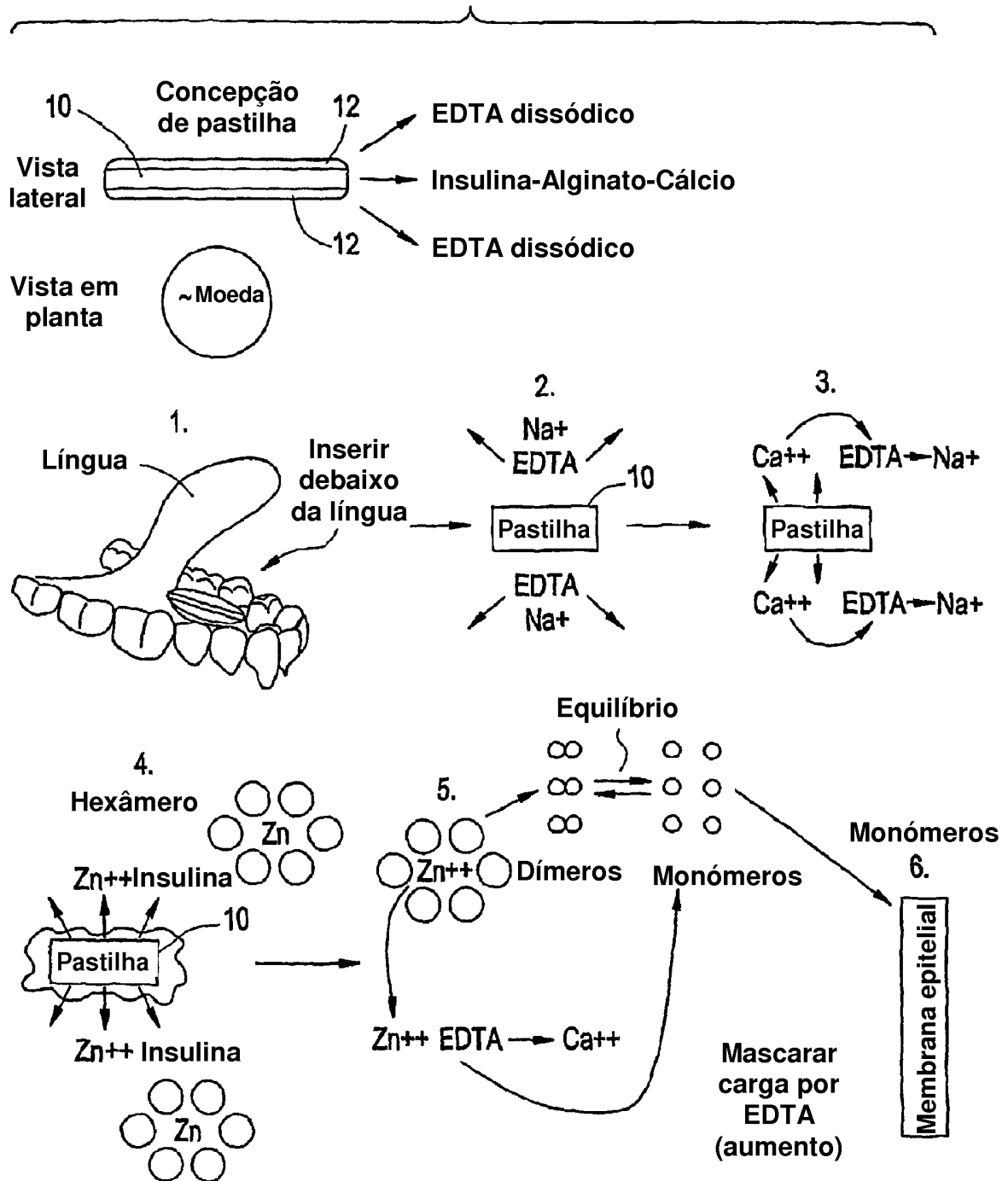


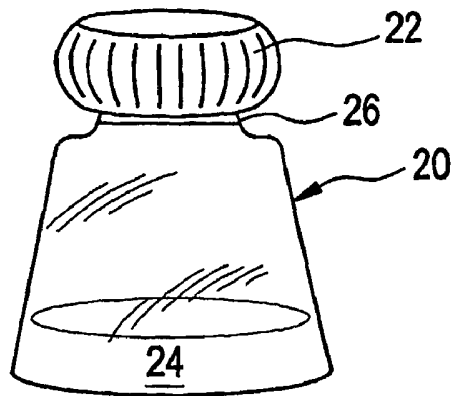
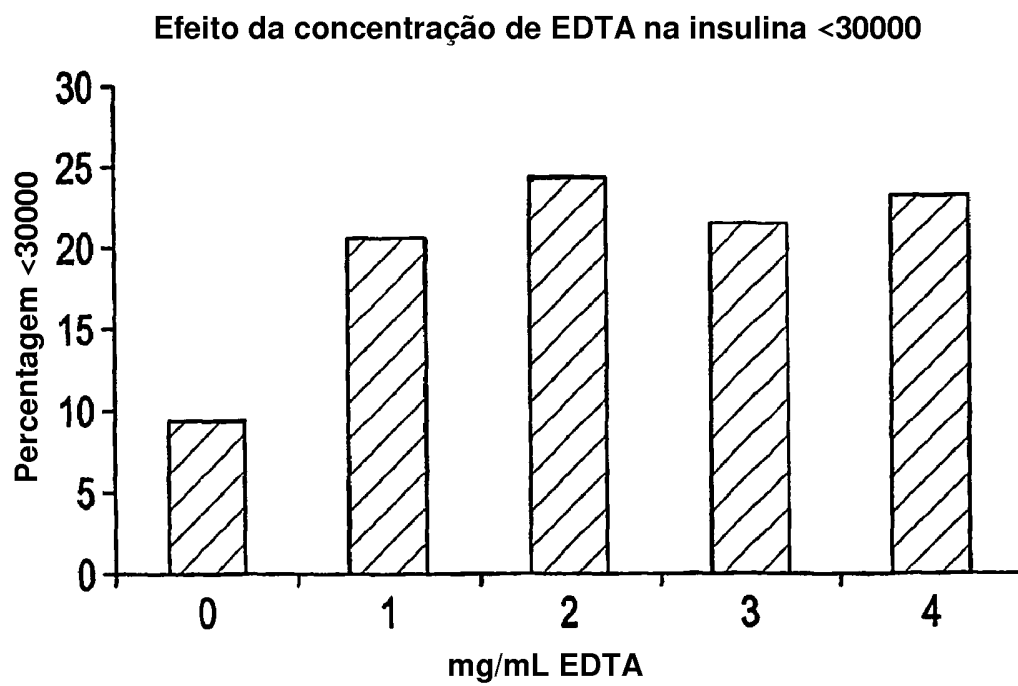
FIG. 2**FIG. 3**

FIG. 4

Efeito de EDTA na dimensão da insulina
Estudo em filtro, 12 de Agosto de 2004

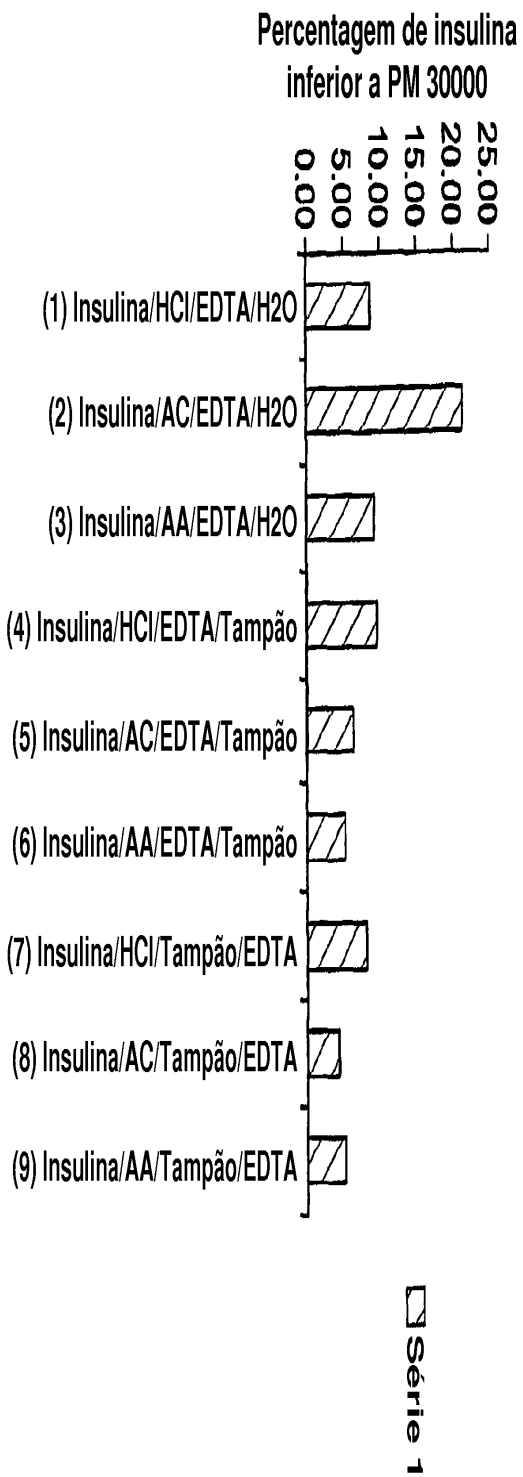


FIG. 6

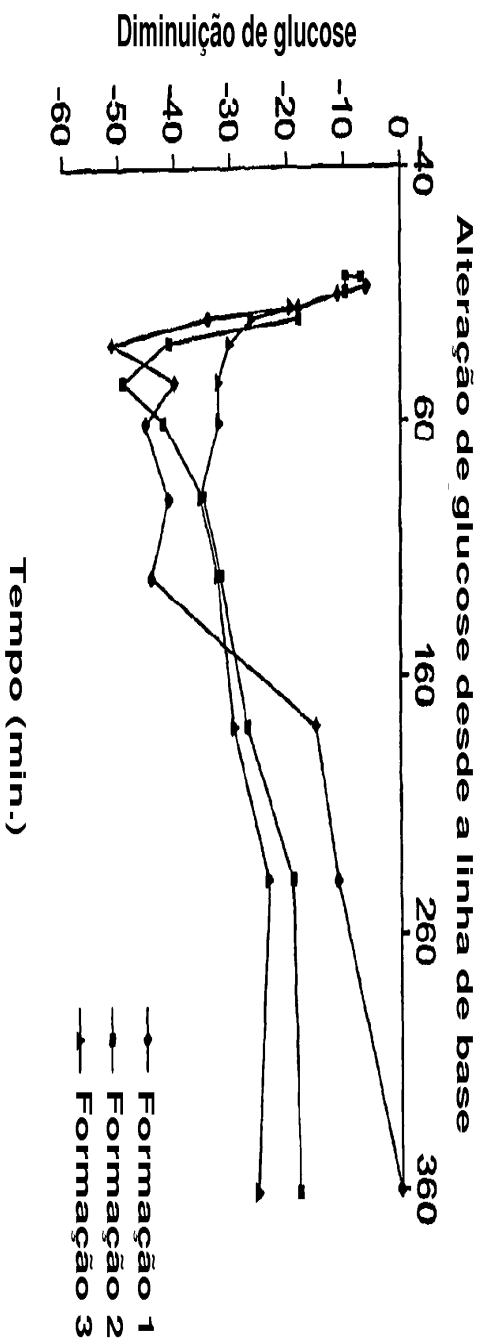


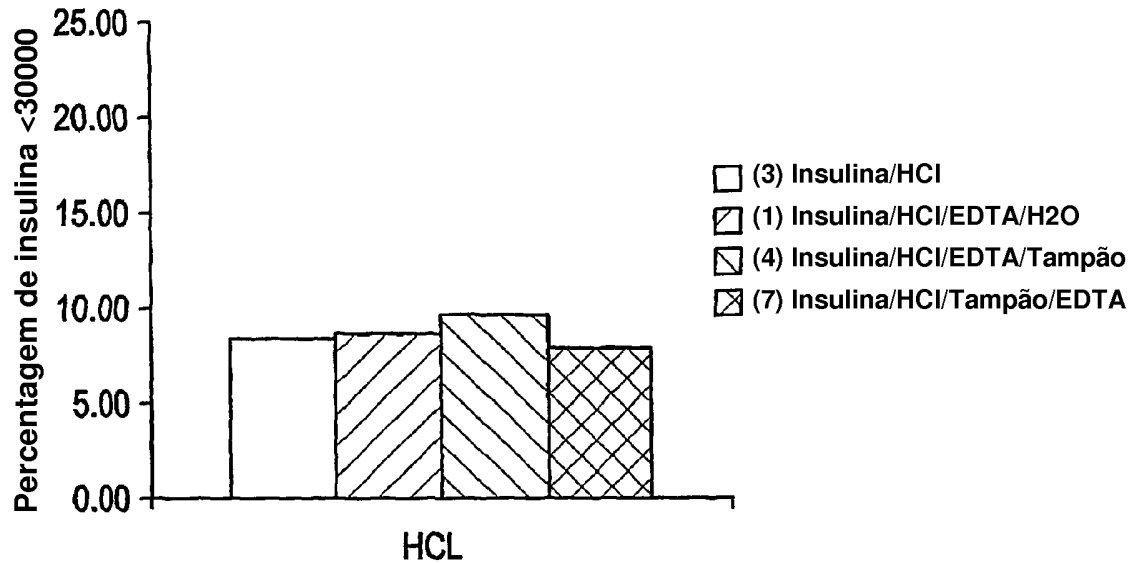
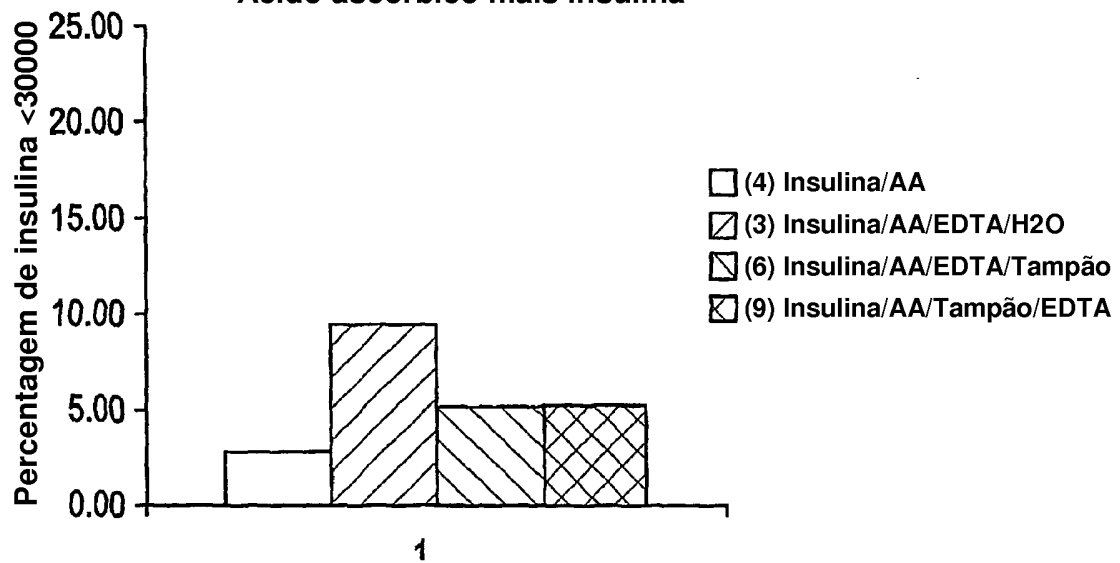
FIG. 5A**HCl mais insulina****FIG. 5B****Ácido ascórbico mais insulina**

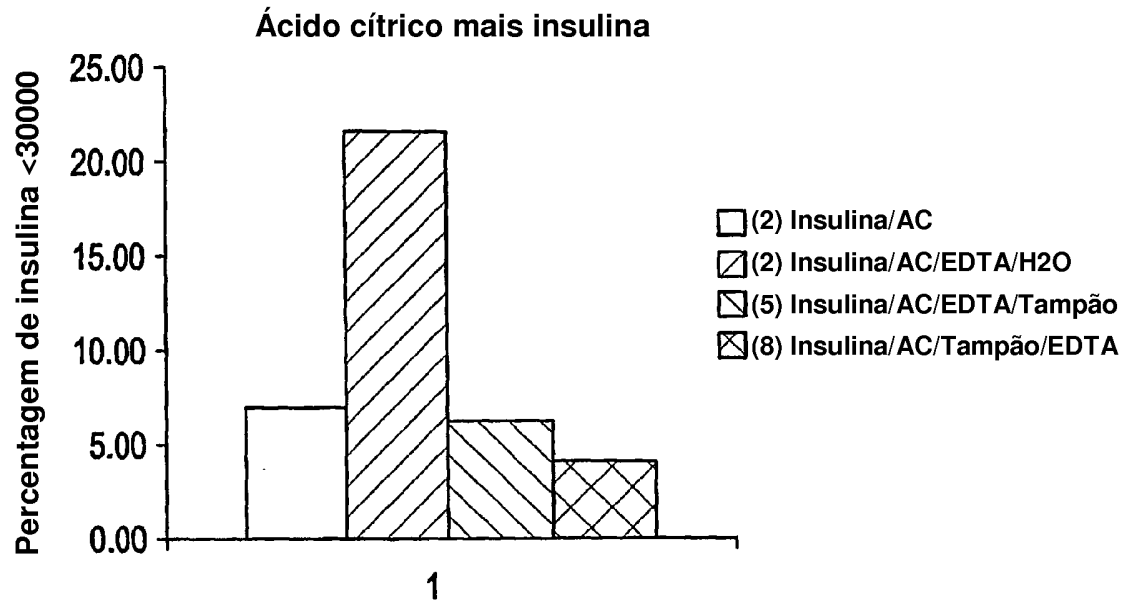
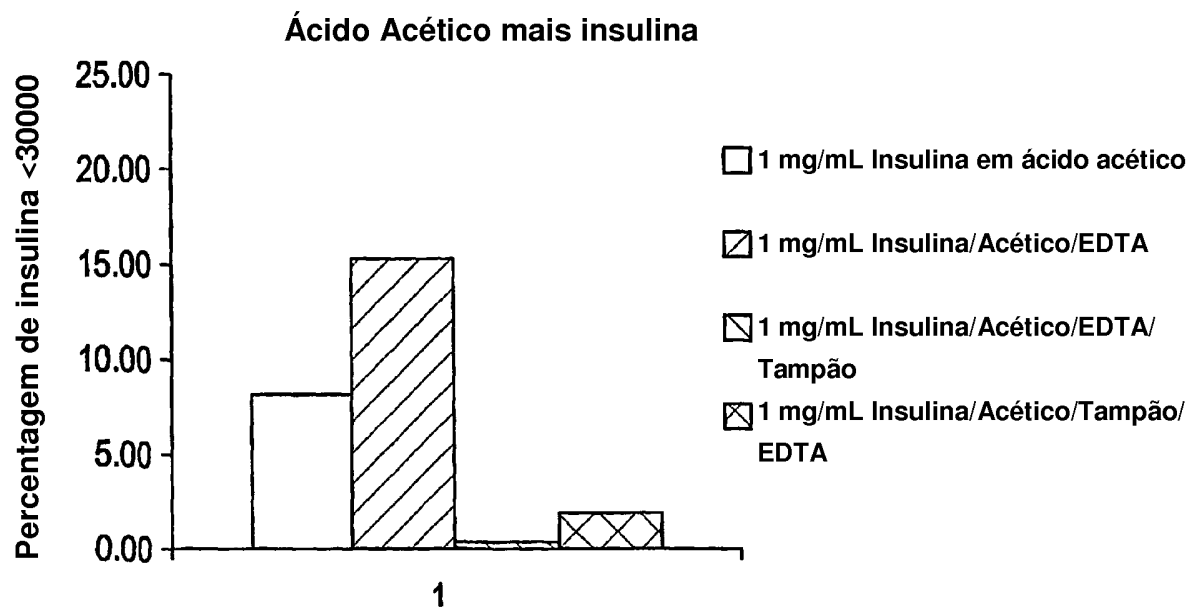
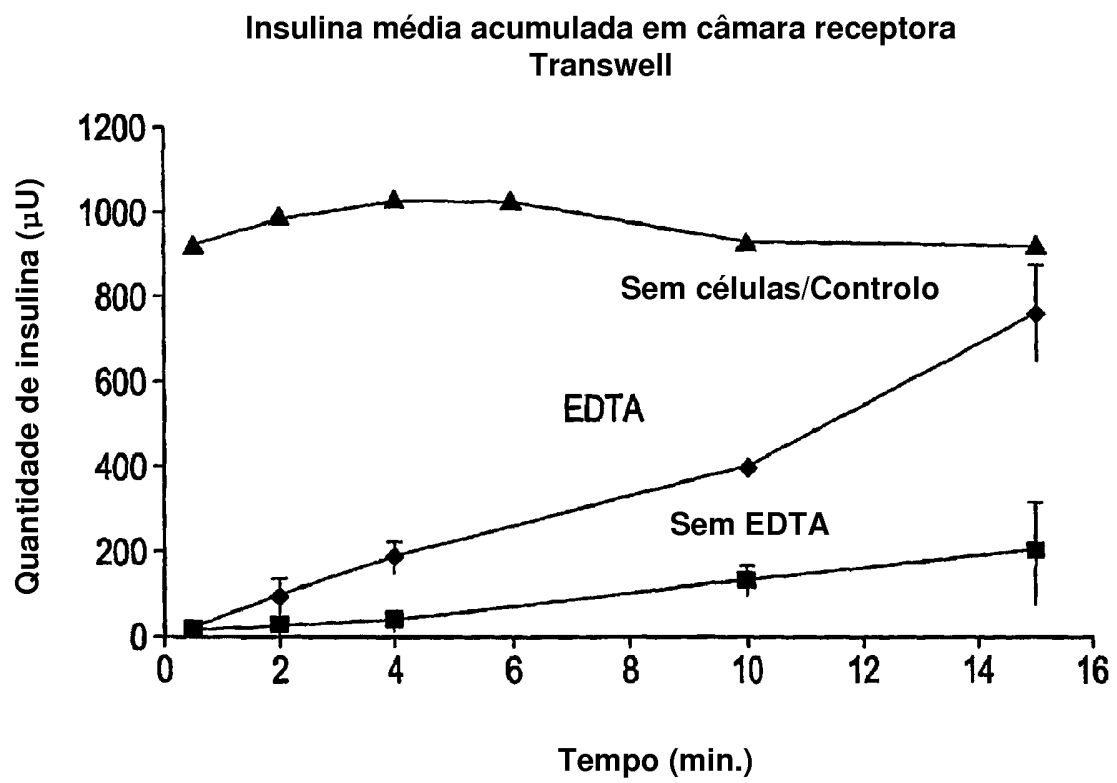
FIG. 5C**FIG. 5D**

FIG. 7



RESUMO

"COMPOSIÇÕES DE INSULINA COM ABSORÇÃO MELHORADA"

Descrevem-se aqui formulações farmacológicas para distribuição sistémica de fármacos com estabilidade melhorada e início rápido de acção. As formulações podem ser administradas via administração bucal, administração sublingual, distribuição pulmonar, administração nasal, administração subcutânea, administração rectal, administração vaginal ou administração ocular. Nas formas de realização preferidas, as formulações são administradas de forma sublingual ou via injeção subcutânea. As formulações contêm um agente activo e um ou mais excipientes seleccionados para aumentar a velocidade de dissolução. Na forma de realização preferida, o fármaco é insulina e os excipientes incluem um quelante metálico, como EDTA, e um ácido, tal como ácido cítrico.