



República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0621122-4 A2**

(22) Data de Depósito: 19/12/2006  
(43) Data da Publicação: 29/11/2011  
(RPI 2134)



\* B R P I 0 6 2 1 1 2 2 A 2 \*

(51) *Int.Cl.:*

A61K 31/704  
A61K 31/728  
A61K 31/702  
A61K 8/73  
A61P 17/00  
A61K 31/07  
A61K 9/08  
A61K 9/06

(54) **Título:** PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA OU COSMÉTICA, PRODUTO, PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE UMA PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA OU COSMÉTICA, PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE UM PRODUTO E USOS DE UMA PREPARAÇÃO

(30) **Prioridade Unionista:** 21/12/2005 FR 0513055

(73) **Titular(es):** Galderma Research & Development

(72) **Inventor(es):** Jean-Claude Yadan, Marc Moutet

(74) **Procurador(es):** PAOLA CALABRIA MATTIOLI

(86) **Pedido Internacional:** PCT FR2006051391 de 19/12/2006

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/074288de 05/07/2007

(57) **Resumo:** PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA OU COSMÉTICA, PRODUTO, PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE UMA PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA OU COSMÉTICA, PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE UM PRODUTO E USOS DE UMA PREPARAÇÃO. A presente invenção trata de uma preparação farmacêutica ou cosmética para aplicação tópica ou parenteral que compreende, em um meio fisiologicamente aceitável, ácido hialurônico, pelo menos um retinóide ou seus sais e derivados, pelo menos um oligossacarídeo, e pelo menos um inibidor da degradação do ácido hialurônico. A presente invenção se aplica em particular ao campo da dermatologia humana ou da cirurgia reparadora.

**“PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA OU COSMÉTICA, PRODUTO,  
PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE UMA PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA  
OU COSMÉTICA, PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE UM PRODUTO E  
USOS DE UMA PREPARAÇÃO”**

5

**CAMPO DA INVENÇÃO**

A presente invenção trata de preparações para aplicação tópica e/ou parenteral que compreendem, em um meio fisiologicamente aceitável, ácido hialurônico, processos de fabricação dessas preparações, e seus usos como medicamento, sendo as referidas preparações destinadas ao tratamento das afecções dermatológicas, em particular, ao tratamento para preenchimento das rugas, ruguinhas, depleções fibroblásticas e quaisquer cicatrizes.

**ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

O envelhecimento da pele é uma das modificações mais visíveis do processo de senescência. Além disso, a pele está exposta a diversos fatores suscetíveis de acelerar esse processo fisiológico. Distinguem-se dois tipos de envelhecimento cutâneo. De um lado, um envelhecimento intrínseco, que é mais fácil de avaliar em áreas que não estão normalmente expostas ao sol e, de outro lado, o envelhecimento extrínseco, provocado pelos raios UV. Esses fatores ambientais possuem um efeito muito acentuado sobre as partes do corpo expostas ao sol, sobretudo nas pessoas de fototipo claro. Fala-se então de envelhecimento actínico. Outros fatores tais como os hábitos alimentares, o tabagismo, o consumo excessivo de álcool, as doenças crônicas e as disfunções das glândulas endócrinas contribuem igualmente para esse envelhecimento.

25

Durante o envelhecimento intrínseco da pele, a pele fica pouco modificada. A epiderme é atrófica e a junção dermo-epidérmica é achatada, de modo que a adesão à derme é pior, facilitando a formação de bolhas. A espessura da derme é nitidamente reduzida; nela há menos vasos sanguíneos.

Observam-se também menos fibroblastos e suas capacidades de biossíntese e de proliferação ficam diminuídas. As fibras elásticas sofrem primeiramente modificações para desaparecer em seguida.

No que se refere ao envelhecimento extrínseco, observa-se uma epiderme irregular, às vezes atrófica, às vezes hiperplásica, com sinas de desorganização e de displasia. Os melanócitos são mais numerosos em certos locais, e em número reduzido em outros. Há também uma irregularidade de distribuição da melanina na epiderme, em consequência dos problemas de transferência dos melanossomas. O número de células de Langerhans diminui. Os pequenos vasos sanguíneos ficam primeiramente dilatados, para depois de adelgaçar e se atrofiar.

As rugas são os sinais mais visíveis do envelhecimento. Existem rugas de diferentes naturezas, em particular as rugas superficiais e profundas. As rugas profundas seriam devidas às modificações dermo-hipodérmicas, ao passo que as rugas superficiais poderiam ser explicadas por modificações dérmicas e eventualmente epidérmicas. As rugas são, sobretudo devidas à perda de elasticidade da pele. O dano causado à rede elástica subepidérmica provoca uma frouxidão superficial da pele envelhecida e um plissamento de sua superfície. A destruição das fibras elásticas na derme reticular é responsável pela perda de elasticidade e da capacidade da pele de retomar sua forma depois do estiramento. De acordo com o tipo de intensidade e da topografia, um tratamento adequado será possível.

O tratamento das modificações cutâneas inestéticas ligadas ao envelhecimento fez enormes progressos nos últimos anos.

Um número relativamente elevado de substâncias naturais ou sintéticas foi atualmente descrito como implantes dérmicos, ou seja, como substâncias injetadas diretamente na pele, a fim de corrigir as alterações cutâneas resultantes dos envelhecimentos, de traumatismos ou de doenças.

Outras alternativas terapêuticas para essas aplicações são em particular a injeção local da toxina botulínica (Botox<sup>®</sup>) ou o uso de técnicas a laser. Esses diferentes tipos de tratamento não são exclusivos e sua combinação foi até recomendada. Entre as substâncias naturais de origem humana, o colágeno e o ácido hialurônico são as mais usadas nos produtos disponíveis no mercado.

O ácido hialurônico é um polissacarídeo natural ubiqüitário que existe na forma de mais simples bactéria no homem. É um polímero de dissacarídeos que são por sua vez compostos de ácido D-glucurônico e de N-acetilglucosamina, ligados entre si por ligações glicosídicas alternadas beta-1,4 e beta-1,3. Os polímeros dessa unidade de repetição podem ter um tamanho entre 102 e 104 kDa *in vivo*. O ácido hialurônico representa em particular um componente natural da derme em que ele desempenha um papel importante na hidratação e na elasticidade da pele. Ele diminui, todavia, em quantidade e em qualidade com a idade, provocando um ressecamento da pele que se enruga. Ele é muito hidrossolúvel e forma soluções de viscosidade elevada na água. Devido a essas propriedades particulares, o ácido hialurônico faz parte dos produtos farmacêuticos mais utilizados.

Todavia, no ser humano, o ácido hialurônico é eliminado com muita rapidez do plasma por degradação. Sua semi-vida plasmática após injeção intravenosa é muito curta, entre 2,5 e 5,5 minutos, ao passo que na pele, sua semi-vida é de 0,5 a 2 dias de acordo com sua concentração. Sua excreção urinária é baixa, inferior a 1% da eliminação total. No coelho, a velocidade de eliminação, na pele, foi medida (Reed RK, Laurent UB, Fraser JR, Laurent TC, Removal rate of [3H] hyaluronan injected subcutaneously in rabbits. Am J Physiol. 1990 Aug; 259 (2 Pt 2):H532-5). Ela é não exponencial com uma semi-vida de 0,5 a 1 dia quando sua concentração é de 5 mg/ml.

A tolerância do ácido hialurônico é muito boa e nenhuma

imunogenicidade foi associada a essa substância. Encontra-se assim uma incidência de efeitos secundários muito baixos.

O uso do ácido hialurônico, sozinho ou em associação, foi assim descrito para diversas aplicações médicas, tais como, por exemplo, o tratamento da osteoartrite bem como da artrite reumatóide. Composições injetáveis tais como, por exemplo, o ácido hialurônico sozinho, o colágeno sozinho ou a associação "ácido hialurônico e colágeno" foram também utilizados em cirurgia reparadora, em tratamentos para preenchimento das rugas, ruguinhas, depleções fibroblásticas e quaisquer cicatrizes.

Atualmente, diversos implantes dérmicos são utilizados, mas nenhum foi considerado como ideal para um aumento tissular seguro e sadio (Naoum C, Dasiou-Plaskida D. Dermal filler materials and botulin toxin Int J Dermatol. 2001 Oct; 40 (10): 609-21).

Entretanto, o ácido hialurônico, em virtude de sua biodisponibilidade muito baixa após injeção e sua frequência de injeção muito elevada, não pode ser utilizado como tal.

Evidentemente, procurou-se desenvolver composições à base de ácido hialurônico que possuam uma biodisponibilidade muito boa e suscetíveis de resistir melhor à ação das enzimas de degradação. Isso permite, em particular, espaçar as intervenções e reduzir seu número.

Essas composições utilizadas como implante dérmico são todas compostas de ácido hialurônico e um grande número delas compreendem ácido hialurônico modificado quimicamente com essa finalidade. Além disso, o ácido hialurônico incluído nesses produtos é predominantemente de origem não humana como, por exemplo, de origem aviária ou bacteriana.

Serão encontrados assim nessas composições diversos derivados de ácido hialurônico modificados quimicamente em forma, em particular de ésteres, de amidas, bem como derivados que possuem "pontes intra e/ou

intercadeias” (reticuladas).

Entretanto, essas modificações afetam as características físico-químicas e as propriedades biológicas do ácido hialurônico, bem como sua evolução após administração. Essas modificações estruturais do ácido hialurônico podem provocar reações inflamatórias como relata Sopaar CHS, Patrinely HR Optalmic plastic and reconstructive surgery 2005 Mars; 21(2): 151-53.

Além disso, embora superior à do ácido hialurônico natural, a biodisponibilidade desses derivados de ácido hialurônico é sempre muito curta.

10

#### **DESCRIÇÃO RESUMIDA DA INVENÇÃO**

Considerando o exposto acima, um problema que a presente invenção visa solucionar é a realização de preparações que compreendem ácido hialurônico que possuam melhor biodisponibilidade conservando ao mesmo tempo suas características físico-químicas e suas propriedades biológicas, bem como um processo de fabricação dessa preparação.

A solução da presente invenção, pensando neste problema, tem por primeiro objeto uma composição ou uma preparação farmacêutica ou cosmética, em particular para aplicação tópica e/ou parenteral que compreende, em um meio fisiologicamente aceitável, ácido hialurônico, caracterizada pelo fato de compreender ainda pelo menos:

20

- um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados,
- um oligossacarídeo, e
- um inibidor da degradação do ácido hialurônico.

A presente invenção tem como segundo objeto um processo de fabricação de uma composição ou de uma preparação farmacêutica ou cosmética para aplicação tópica e/ou parenteral que compreende, em um meio fisiologicamente aceitável, ácido hialurônico, e pelo menos um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados, um oligossacarídeo, e um inibidor da

25

degradação do ácido hialurônico, caracterizado pelo fato de compreender a etapa de mistura de uma quantidade eficaz do ácido hialurônico com pelo menos um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados, pelo menos um oligossacarídeo, e pelo menos um inibidor da degradação do ácido hialurônico.

5 De preferência, o processo de acordo com a presente invenção compreende igualmente uma etapa de preparação de um meio fisiologicamente aceitável, no qual os ativos são misturados.

Finalmente, a presente invenção tem por terceiro objeto, o uso de uma preparação de acordo com a presente invenção para a fabricação de um medicamento destinado ao tratamento e/ou à prevenção das afecções dermatológicas.

Quando uma composição ou preparação farmacêutica ou cosmética para aplicação tópica e/ou parenteral compreender, em um meio fisiologicamente aceitável, ácido hialurônico, e pelo menos um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados, um oligossacarídeo, e um inibidor da degradação do ácido hialurônico, ela aumenta nitidamente a biodisponibilidade do ácido hialurônico, permite espaçar as aplicações e reduzir seu número e apresenta uma eficácia importante no preenchimento das rugas, ruguinhas, depleções fibroblásticas e quaisquer cicatrizes.

20 A presente invenção será mais bem compreendida com a leitura da descrição não limitativa feita a seguir.

#### **BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS**

As figuras anexas da presente invenção são conforme definidas a seguir:

25 - a figura 1 apresenta, sob uma representação semi-logarítmica, os resultados de um estudo que tem por finalidade avaliar o efeito inibidor da glicirrizina sobre a atividade hialuronidase de origem bovina.

- a figura 2 apresenta os resultados de um estudo que tem por

finalidade avaliar o efeito da associação "GLZ + pentâmero (NAB-ácido glucurônico)<sup>5</sup> + retinol" sobre a neossíntese de ácido hialurônico por queratinócitos humanos normais.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

5 A preparação de acordo com a presente invenção compreende, em um meio fisiologicamente aceitável, ácido hialurônico, e pelo menos um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados, um oligossacarídeo, e um inibidor da degradação do ácido hialurônico.

10 A presente invenção tem também por objeto um produto que compreende, de preferência:

- ácido hialurônico,
  - pelo menos um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados,
  - pelo menos um oligossacarídeo, de preferência um, e
  - pelo menos um inibidor da degradação do ácido hialurônico, de
- 15 preferência um,

como produto de combinação para uma utilização simultânea, separada, ou escalonada ao longo do tempo no tratamento de afecções dermatológicas.

20 Esse produto de combinação é em particular eficaz no tratamento das rugas, das ruguinhas, das depleções fibroblásticas e das cicatrizes.

Por "produto de combinação", entende-se uma composição única que compreende cada um dos compostos ativos, mas também uma composição complexa que compreende pelo menos duas composições diferentes, que compreendem, cada uma, uma parte dos ativos da referida

25 preparação.

Por "ativos" entendem-se, de acordo com a presente invenção, os compostos escolhidos entre o ácido hialurônico, pelo menos um oligossacarídeo, pelo menos um inibidor da degradação do ácido hialurônico e

pelo menos um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados. Assim, o produto de combinação de acordo com a presente invenção compreende pelo menos 4 ativos.

A título de exemplo não limitativo de produto de combinação de acordo com a presente invenção, pode-se citar:

- uma composição única que compreende ácido hialurônico, um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados, um oligossacarídeo e um inibidor da degradação do ácido hialurônico;

- uma composição que compreende um só desses quatro ativos associados a uma composição que compreende pelos os três outros ativos;

- uma composição que compreende dois desses quatro ativos associados a uma composição que compreende pelo menos os dois outros ativos; e

- uma composição que compreende três desses quatro ativos associados a uma composição que compreende pelo menos o quarto ativo.

De preferência o produto de combinação de acordo com a presente invenção compreende uma composição A que compreende ácido hialurônico em forma de uma solução injetável (de preferência aquosa), associada a uma composição B que compreende pelo menos:

- um inibidor da degradação do ácido hialurônico, de preferência, a glicirrizina,

- um oligossacarídeo, de preferência, o pentâmero (NAC-ácido glucurônico)<sup>5</sup>, e

- um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados, de preferência o retinil,

em forma de composição para aplicação tópica.

Por meio fisiologicamente aceitável de acordo com a presente invenção, entende-se um meio compatível com a pele e eventualmente com

seus fâneros (cílios, unhas, cabelos) e/ou as mucosas.

Nas preparações de acordo com a presente invenção, o ácido hialurônico, o retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados, o oligossacarídeo e o inibidor da degradação do ácido hialurônico estão presentes em proporções que podem variar de 0,0000001% a 10%, preferencialmente de 0,00001% a 1% em peso, em relação ao peso total da preparação. Na presente descrição, e salvo especificação diferente, deve-se entender que quando forem dados intervalos de concentrações, eles incluem os limites superiores e inferiores do referido intervalo.

10 As preparações da presente invenção compreendem ácido hialurônico.

Por ácido hialurônico, entende-se o composto constituído pelo encadeamento de ácido glucurônico e de N-acetil-glucosamina.

De modo vantajoso, o ácido hialurônico é natural.

15 Por ácido hialurônico natural, entende-se um ácido hialurônico não estabilizado, não modificado quimicamente em forma, em particular, de ésteres, de amidas, ou em forma de derivados, que possuem "pontes intra e/ou intercadeias" (reticuladas), e essas modificações afetam as características físico-químicas e as propriedades biológicas do referido ácido hialurônico, bem como sua evolução depois da administração.

As preparações de acordo com a presente invenção compreendem ainda um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados, considerados sozinhos ou em mistura.

25 Entre os retinóides suscetíveis de entrar nas preparações de acordo com a presente invenção, serão escolhidos preferencialmente o retinol, o retinal e/ou o ácido retinóico, seus sais e derivados, considerados sozinhos ou em mistura, mais preferencialmente o retinol.

Por sal de retinóide, entende-se em particular um sal de metal

alcalino, ou um sal alcalino-terroso, ou um sal de amina orgânica. Por derivado de retinóide, entende-se em particular os ésteres, tais como o retinil palmitato, o retinil acetato, o retinil estearato, o retinil oleato, o retinil propionato, ou ainda o retinil linoleato.

5 De modo vantajoso, os retinóides utilizados nas preparações de acordo com a presente invenção são retinóides que existem naturalmente no organismo humano.

As preparações de acordo com a presente invenção compreendem ainda um oligossacarídeo.

10 Por oligossacarídeo, entende-se em particular qualquer oligossacarídeo que limite a penetração do ácido hialurônico nas células da pele, em particular os queratinócitos e os fibroblastos.

Entre os oligossacarídeos, considerados sozinhos ou em mistura, suscetíveis de entrar nas preparações de acordo com a presente invenção, serão escolhidos os oligômeros do ácido hialurônico, preferencialmente os tri- a  
15 decâmeros do ácido hialurônico, mais preferencialmente os tetra a hexâmeros do ácido hialurônico, mais preferencialmente o pentâmero do ácido hialurônico.

De modo vantajoso, os oligossacarídeos utilizados nas preparações de acordo com a presente invenção são compostos que existem  
20 de modo natural no organismo humano.

Nas preparações de acordo com a presente invenção, o oligossacarídeo é utilizado em concentrações compreendidas entre  $10^{-9}$  M, preferencialmente entre  $10^{-9}$  e  $10^{-3}$  M, preferencialmente entre  $10^{-8}$  M e  $10^{-5}$  M.

As preparações de acordo com a presente invenção  
25 compreendem ainda um inibidor da degradação do ácido hialurônico.

Por inibidor da degradação do ácido hialurônico, entende-se um composto capaz de diminuir, e mesmo bloquear, o catabolismo extracelular ou intracelular do ácido hialurônico, preferencialmente um composto capaz de

inibir a hialuronidase extracelular presente na pele.

Entre os inibidores da degradação do ácido hialurônico, considerados sozinhos ou em mistura, suscetíveis de entrar nas preparações de acordo com a presente invenção, serão escolhidos em particular a glicirrizina ou o ácido glicirretínico, seus derivados e/ou seus análogos.

De modo vantajoso, os inibidores da degradação do ácido hialurônico utilizados nas preparações da presente invenção são naturais.

Nas preparações de acordo com a presente invenção, o inibidor é utilizado em concentrações compreendidas entre  $10^{-9}$  e  $10^{-2}$ M, preferencialmente entre  $10^{-6}$ M e  $10^{-3}$ M.

Por derivados da glicirrizina ou do ácido glicirretínico, entendem-se em particular os sais, os derivados substituídos, os enantiômeros e os racematos dos referidos compostos.

Como sais dos referidos compostos, pode-se citar os sais obtidos por adição dos referidos compostos com uma base inorgânica, escolhida em particular entre os hidróxidos de sódio, de lítio, de cálcio, de potássio, de magnésio, de amônio ou de zinco, os carbonatos de metais alcalinos ou alcalino-terrosos tais como os carbonatos ou bicarbonatos de sódio, de lítio, de cálcio, de potássio, de magnésio, de amônio ou de zinco, ou com uma base orgânica, escolhidos em particular entre a metilamina, a propilamina, a trietilamina, a dietilamina, a trietilamina, a N,N-dimetiletanolamina, o tris(hidroxi metil)-aminometano, a etanolamina, a piridina, a picolina, a dicitclohexilamina, a morfolina, a proceína, a lisina, a arginina, a histidina, a N-metilglucamina ou ainda os sais de fosfônio tais como os sais de alquil-fosfônio, os sais de aril fosfônio, os sais de alquil-aril fosfônio, os alquenil-arilfosfônio ou os sais de amônio quaternário tais como os sais de tetra-n-butil-amônio. Esses sais são em particular o sal de potássio do ácido glicirretínico, o sal de sódio do ácido glicirretínico, ou ainda o sal monoamônio do ácido glicirretínico (amônio

glicirretinato).

Por análogo, entendem-se em particular os análogos enzimáticos ou biomiméticos dos referidos compostos, capazes de se fixar no sítio catalítico ou não das hialuronidases e de inibir assim sua ativação. Esses análogos  
5 podem ser selecionados *in vitro* por testes de ligação ou de inibição das hialuronidases de acordo com as técnicas clássicas utilizadas.

De modo vantajoso, os derivados e/ou os análogos devem ser de origem natural.

Os compostos e seus derivados e/ou análogos de origem natural  
10 são compostos no estado puro ou em solução em diferentes concentrações, obtidos por diferentes processos de extração ou de hidrólise de material biológico de origem natural.

De modo conhecido, as preparações de acordo com a presente invenção podem conter também os adjuvantes habituais bem conhecidos do  
15 técnico no assunto.

As preparações de acordo com a presente invenção são preparadas para uma aplicação por via tópica e/ou parenteral.

Por via tópica, as preparações podem se apresentar sob todas as formas galênicas normalmente utilizadas para uma administração por via tópica. A  
20 título de exemplo não limitativo de preparações tópicas, pode-se citar preparações sob forma líquida, pastosa, ou sólida e, mais particularmente, na forma de unguentos, de soluções aquosas, hidroalcoólicas ou oleosas, de dispersões do tipo loção eventualmente bifásicas, de soro, de géis aquosos, anidras ou lipófilas, de pós, de tampões embebidos, de detergentes sintéticos, de toalhinhas umedecidas,  
25 de sprays, de espumas, de bastões, de xampus, de compressas, de bases lavantes, de emulsões de consistência líquido ou semilíquida de tipo leite, obtidas por dispersão de uma fase graxa em uma fase aquosa (O/A) ou inversamente (A/O), de uma microemulsão, de suspensões ou emulsões de consistência mole,

semilíquida ou sólida de tipo creme branco ou colorido, gel ou pomada, de suspensões de microesferas ou nanoesferas ou de vesículas lipídicas ou poliméricas, ou de microcápsulas, micro- ou nanopartículas ou de emplastos poliméricos ou gelificados que permitem uma liberação controlada.

5 Por via parenteral, as preparações de acordo com a presente invenção podem ser aplicadas por via subcutânea ou intradérmica. A título não limitativo de preparações parenterais, pode-se citar preparações em forma de soluções ou suspensões para perfusão ou para injeção.

10 De acordo com a presente invenção, os compostos que constituem a preparação podem ser administrados por um modo de administração ou por um modo de administração combinado.

15 Por um modo de administração combinado, entende-se a administração de um ou mais compostos da preparação de acordo com a presente invenção por via tópica combinado com uma administração por via parenteral, em particular por injeção subcutânea ou intradérmica de ou dos outros compostos da preparação.

De modo vantajoso, uma parte dos compostos é primeiramente aplicada por via tópica e outra parte dos referidos compostos é aplicada a seguir por via parenteral, ou inversamente.

20 De acordo com uma alternativa da presente invenção, pode-se também aplicar simultaneamente uma parte dos compostos por via tópica e outra parte dos referidos compostos por via parenteral.

25 A título de exemplo não limitativo dado simplesmente a título de exemplo e sem qualquer intenção de limitar o alcance da presente invenção, o ácido hialurônico pode ser administrado em forma de uma solução aquosa injetável, e o retinol, o pentâmero de ácido hialobiurônico e a glicirrizina são administrados em forma de um creme.

Quando se trata de uma administração combinada, as frequências

de administração podem ser idênticas ou diferentes.

A título de exemplo não limitativo, a frequência de administração do ácido hialurônico injetado em forma de uma solução aquosa injetável pode variar de 1 a 12 meses, preferencialmente de 6 a 12 meses, ao passo que a dos outros compostos de preparação de acordo com a presente invenção administrados em  
5 forma de creme pode variar de 1 a 7 dias, preferencialmente de 1 a 3 dias.

O processo de fabricação de uma preparação de acordo com a presente invenção se caracteriza pelo fato de compreender uma etapa de mistura de uma quantidade eficaz de ácido hialurônico, de pelo menos um retinóide e/ou  
10 seus sais e/ou seus derivados, de pelo menos um oligossacarídeo, e de pelo menos um inibidor da degradação do ácido hialurônico. De preferência, o referido processo compreende uma etapa de preparação de um meio fisiologicamente aceitável, no qual os ativos são adicionados.

De acordo com um modo particular da presente invenção, o  
15 processo de fabricação de uma preparação compreende as etapas de preparação de um meio fisiologicamente aceitável e de mistura de uma quantidade eficaz de ácido hialurônico, de retinol, de pentâmero do ácido hialurônico, e de glicirrizina e/ou seus derivados e/ou análogos.

De modo vantajoso, o processo de fabricação de um produto de  
20 combinação de acordo com a presente invenção compreende uma primeira etapa de preparação de uma solução injetável, que compreende a mistura do ácido hialurônico com um meio fisiologicamente aceitável, e uma segunda etapa de preparação de uma formulação apropriada para a via tópica, que compreende a mistura de pelo menos um retinóide e/ou seus sais e/ou seus  
25 derivados, com pelo menos um oligossacarídeo e pelo menos um inibidor da degradação do ácido hialurônico em um meio fisiologicamente aceitável.

A presente invenção trata também do uso de uma preparação tal como descrita anteriormente para a fabricação de um medicamento destinado

ao tratamento e/ou à prevenção das afecções dermatológicas.

Mais particularmente, a presente invenção trata do uso de uma preparação tal como descrita anteriormente para a fabricação de um medicamento destinado ao tratamento das rugas, ruguinhas, depleções fibroblásticas e cicatrizes. Esse medicamento é apropriado para o tratamento da pele enrugada e/ou idosa, e visa principalmente a prevenir e/ou a reduzir seus efeitos. O tratamento das rugas, ruguinhas, depleções fibroblásticas e quaisquer cicatrizes, é feito em particular por preenchimento.

Em particular, a preparação de acordo com a presente invenção pode ser aplicada nas regiões do rosto ou da testa marcadas por rugas de expressão.

A presente invenção trata em particular do uso de uma preparação tal como descrita anteriormente para a fabricação de um medicamento destinado a ser utilizado no campo da cirurgia reparadora.

Além disso, a presente invenção trata do uso de uma preparação de acordo com a presente invenção em um implante dérmico.

A presente invenção vai ser agora ilustrada por meio dos exemplos apresentados a seguir.

#### EXEMPLOS

#### EXEMPLO 1

#### EFEITO INIBIDOR DA GLICIRRIZINA (GLZ) SOBRE A ATIVIDADE HIALURONIDASE DE

#### ORIGEM BOVINA

Determinação da CI50 de GLZ, com ou sem pré-incubação a 37°C:

A GLZ, em diferentes concentrações, é pré-incubada ou não 20 minutos a 37°C em presença da enzima. A reação enzimática é desencadeada por adição da solução de ácido hialurônico (tempo T0). Após 20 minutos de incubação, o ácido hialurônico não hidrolisado é precipitado por adição da

solução de ácido de albumina bovina.

A fim de verificar se a etapa de pré-incubação não influi sobre a estabilidade da hialuronidase, uma alíquota de uma solução de enzima é colocada a 37°C durante 20 minutos. Outra alíquota é conservada em um  
5 banho de gelo durante 19 minutos, e incubada a seguir a 37°C durante 1 minuto. Uma solução de ácido hialurônico é então adicionada em cada alíquota (T0). Após 15, 30 ou 45 minutos de incubação, o ácido hialurônico não hidrolisado é precipitado por adição da solução ácida de albumina bovina.

Medida da atividade hialuronidase de origem bovina:

10 Após a etapa de precipitação, a turbidimetria das soluções é determinada com um espectrômetro a um comprimento de onda de 600 nm. A densidade ótica (DO) dessas soluções é subtraída da DO de uma solução de controle de ácido hialurônico (de mesma concentração) não hidrolisado pela enzima. Essa diferença de DO, que é inversamente proporcional à concentração de  
15 ácido hialurônico, é utilizada para medir a atividade da hialuronidase.

O efeito inibidor da GLZ sobre a hialuronidase bovina está ilustrado na figura 1 (representação semilogarítmica).

Os resultados obtidos mostram que esse efeito é dose-dependente e que a concentração de GLZ que inibe a 50% (CI50) a atividade  
20 hialuronidase é de 400 µM sem pré-incubação com a enzima.

Quando a GLS é pré-incubada 20 minutos a 37°C em presença da enzima, a CI50 é de 350 µM.

**EXEMPLO 2**

**EFEITO INIBIDOR DA ASSOCIAÇÃO “GLZ” PENTÂMERO (NAG- ÁCIDO GLUCURÔNICO)5**  
25 **+ RETINOL” SOBRE A NEOSSÍNTESE DE ÁCIDO HIALURÔNICO POR QUERATINÓCITOS**

**HUMANOS NORMAIS**

De acordo com a arte anterior, admite-se que preexiste um equilíbrio entre a neossíntese e a degradação do ácido hialurônico. Em outras

palavras, a neossíntese do ácido hialurônico é o reflexo de sua degradação: medir as variáveis de uma implica, portanto em medir as variações da outra. Por motivos de simplicidade técnica, escolhemos medir a evolução da neossíntese de ácido hialurônico em presença da associação "GLZ" + pentâmero (NAG-ácido glucurônico)<sub>5</sub> + retinil, em relação ao controle correspondente.

O isolamento dos queratinócitos adultos humanos (HHN) é realizado a partir de um fragmento de pele humana coletado após uma operação de plastia abdominal (sujeito CAOL, com 38 anos de idade).

Os KHN são cultivados até confluência em monocamada em placas 24 poços e transplantados. Os KHN são utilizados após a terceira passagem.

O meio de cultura utilizado é o meio MCK a 37°C em uma atmosfera úmida que contém 5% de CO<sub>2</sub>.

O meio de cultura MCK é um meio SFM definido de queratinócitos comportando fatores de crescimento aos quais são adicionados penicilina (50 UI/ml) e streptomomicina (50 µg/ml).

#### Preparação dos reagentes:

O pentâmero (NAG-ácido glucurônico)<sub>5</sub> é dissolvido a 2 mg/ml no meio de cultura MIK (meio MCK contendo 2 µCi/ml de glucosamina radiomarcada). Ele é diluído a seguir em meio MIK contendo 0,2% de DMSO.

Esse produto é testado a 0,1-0,5 e 2 mg/ml.

A glicirrizina (GLZ) é dissolvida a 400 mM em DMSO. Ela é a seguir diluída no meio de cultura MIK (meio MCK contendo 2 µCi/ml de glucosamina radiomarcada).

O produto é testado a 100 – 400 e 800 µM (concentração em DMSO conservada constante: 0,2%).

- O retinol é dissolvido a 10 mM em DMSO. Ele é a seguir

dissolvido no meio de cultura MIK (meio MCK contendo 2  $\mu\text{Ci/ml}$  de glucosamina radiomarcada).

Esse produto é testado a 1 – 10 e 100 nM (concentração em DMSO conservada constante: 0,2 %).

- 5                   - A associação “GLZ” + pentâmero (NAG- ácido glucurônico)<sub>5</sub> + retinil” é realizada por mistura das soluções-mães preparadas acima. Ela é diluída a seguir em meio MIK (meio MCK que contém 2  $\mu\text{Ci/ml}$  de glucosamina radiomarcada).

Esse produto é testado a:

- 10                   - 100  $\mu\text{M}$  de GLZ + 0,1  $\mu\text{M}$  GLZ + 0,1 mg/ml de pentâmero (NAG- ácido glucurônico)<sub>5</sub> + 1 nM de retinol  
                       - 400  $\mu\text{M}$  de GLZ + 0,5 mg/ml de pentâmero (NAG- ácido glucurônico)<sub>5</sub> + 10 nM de retinol  
                       - 800  $\mu\text{M}$  de GLZ + 2 mg/ml de pentâmero (NAG- ácido  
 15 glucurônico)<sub>5</sub> + 100 nM de retinol

Essas três soluções possuem uma concentração constante de DMSO de 0,2%.

Protocolo experimental: (segundo Pienimaki et al., The Journal of Biological Chemistry (2001) Vol 276, N° 23, June 8, p 20428-20435.

- 20                   O sistema reacional é constituído de queratinócitos humanos normais em cultura monocamada em placas de 24 poços (células com confluência no início da incubação).

Os KHN são incubados em presença dos produtos em teste e de glucosamina radiomarcada durante 6-12-24 e 48 horas, sob um volume final de  
 25 400  $\mu\text{l}$  de meio de poço de cultura. A temperatura de incubação é de 37°C. A atmosfera úmida contém 5% de CO<sub>2</sub>.

a. Recuperação de todos os GAG que comportam glucosamina radiomarcada:

No fim da incubação, os meios de cultura são recuperados por centrifugação, a seguir os tapetes celulares são enxaguados com PBS. Recupera-se a mistura composta do meio de enxágüe e do sobrenadante inicial. Após adição do ácido hialurônico (10 µg/fração, papel de “carreador”  
5 durante precipitações com Cloreto de Cetil Piridínio (CPC) e de papaína (200 µg/fração, hidrólise dos proteoglicanos com liberação dos GAG), as frações são incubadas 2 horas a 60°C); a seguir, incubam-se as frações 10 minutos a 100°C para inativar as enzimas por desnaturação térmica. Finalmente, os GAG são precipitados por adição de CPC (concentração final de 1%) e incubados  
10 por uma noite à temperatura ambiente. Após centrifugação durante 10 minutos a 15000 g, seguida de eliminação dos sobrenadantes contendo a glucosaminda radiomarcada não incorporada, enxáguam-se os sedimentos com CPC 1% e centrifugam-se novamente durante 10 minutos a 15000 g e eliminam-se os sobrenadantes.

15                   b.       Medida da neossíntese do ácido hialurônico:

Realiza-se especificamente a hidrólise do ácido hialurônico contido nos sedimentos de centrifugação por incubação (3 horas a 37°C) desses sedimentos com hialuronidase (hialuronan liase de *Streptomyces hyalurolypticus*, 0,25 unidade/fração). Para isso, incuba-se o meio que contém  
20 esses sedimentos e a hialuronidase durante 3 horas à temperatura ambiente, e centrifuga-se a seguir durante 10 minutos a 15000 g. Finalmente, os GAG não hidrolisados são precipitados por adição de CPC (1% de concentração final) em presença de sulfato de condroitina (50 µg/fração – papel de “carreador”. A radioatividade do sobrenadante, determinada em cintilação líquido (medidor β),  
25 é diretamente proporcional à quantidade de ácido hialurônico neossintetizado durante a incubação das células com a glucosamina radiomarcada.

As medidas de radioatividade são apresentadas nas tabelas a seguir:

**TABELA 1**

**MEDIDA DA NEOSSÍNTESE DO ÁCIDO HIALURÔNICO POR QUERATINÓCITOS HUMANOS  
NORMAIS NA AUSÊNCIA DA ASSOCIAÇÃO "GLZ" + PENTÂMERO (NAG- ÁCIDO  
GLUCURÔNICO)5 + RETINOL" (CONTROLE)**

	<b>Incubação 6 h</b>	<b>Incubação 12 h</b>	<b>Incubação 24 h</b>	<b>Incubação 48 h</b>	<b>Incubação 72 h</b>
dpm	4156	12216	38404	62938	64701
	3997	11874	34050	70271	74910
	4232	12463	30264	62411	79646
Média	4128	12184	34239	65207	73086
Desvio-padrão	120	296	4073	4394	7638

5

**TABELA 2**

**MEDIDA DA NEOSSÍNTESE DO ÁCIDO HIALURÔNICO POR QUERATINÓCITOS HUMANOS  
NORMAIS EM PRESENÇA DA ASSOCIAÇÃO "GLZ + PENTÂMERO (NAG- ÁCIDO  
GLUCURÔNICO)5 + RETINOL**

<b>100 [ M de GLZ + 0,1 mg/ml de pentâmoro (NAG- ácido glucurônico)5 + 1 nM de retinol</b>					
	<b>Incubação 6 h</b>	<b>Incubação 12 h</b>	<b>Incubação 24 h</b>	<b>Incubação 48 h</b>	<b>Incubação 72 h</b>
dpm	3508	12844	28289	51974	63822
	3388	14053	26971	55088	64251
	3697	13347	30200	56652	61504
Média	3531	13415	28487**	54571**	63192**
Desvio-padrão	156	607	1624	2381	1478

<b>400 [ M de GLZ + 0,5 mg/ml de pentâmero (NAG- ácido glucurônico)5 + 10</b>					
<b>nM de retinol</b>					
	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>
	<b>6 h</b>	<b>12 h</b>	<b>24 h</b>	<b>48 h</b>	<b>72 h</b>
dpm	3672	9847	25363	26813	54202
	3698	10724	27404	36235	49799
	3461	19577	25351	29007	54488
Média	3610	10383***	26039***	30685***	52830***
Desvio-padrão	130	470	1182	4930	2629
<b>800 [ M de GLZ + 2 mg/ml de pentâmero (NAG- ácido glucurônico)5 + 100</b>					
<b>nM de retinol</b>					
	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>
	<b>6 h</b>	<b>12 h</b>	<b>24 h</b>	<b>48 h</b>	<b>72 h</b>
dpm	3203	8263	17640	32714	33910
	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>	<b>Incubação</b>
	<b>6 h</b>	<b>12 h</b>	<b>24 h</b>	<b>48 h</b>	<b>72 h</b>
	3401	8875	19682	30070	29693
	2580	7590	21320	29092	29194
Média	3061	8243***	19547***	30625***	30932***
Desvio-padrão	428	643	1844	1874	2591

\*\* média significativamente diferente da media do grupo de controle ( $p < 0,05$ )

\*\*\* média significativamente diferente da media do grupo de controle ( $p < 0,01$ )

O efeito inibidor da associação "GLZ + pentâmero "NAG-ácido glucurônico)5 + retinol sobre a neossíntese de ácido hialurônico por queratinócitos humanos normais é ilustrada pela figura 2.

Os resultados obtidos mostram uma inibição acentuada da neossíntese de ácido hialurônico. Esse efeito é dose-dependente e, nas

concentrações dos três componentes mais elevados, a inibição é da ordem de 50 a 60%. Em virtude do equilíbrio preexistente entre neossíntese e degradação do ácido hialurônico, essa inibição na neossíntese observada corresponde a uma inibição da degradação equivalente.

5 Podemos concluir que o efeito da associação protege o ácido hialurônico da degradação. Esse sistema permite, portanto aumentar a bioestabilidade do ácido hialurônico e, conseqüentemente, melhorar sua biodisponibilidade.

### **EXEMPLO 3**

#### **COMPOSIÇÃO N° 1**

10

#### **SOLUÇÃO INJETÁVEL N° 1 CONTENDO OS 4 COMPONENTES**

Esta composição é preparada de modo clássico pelo técnico no assunto:

Ácido hialurônico	2%
Glicirrizina	0,02%
Pentâmero (NAC – ácido glucurônico) <sup>5</sup>	0,002%
Retinol	0,00001%
Água	qsp 100%

### **EXEMPLO 4**

#### **COMPOSIÇÃO N° 2**

15

#### **SOLUÇÃO INJETÁVEL N° 2 DE ÁCIDO HIALURÔNICO ACOPLADA A UM CREME**

#### **CONTENDO OS 3 OUTROS COMPONENTES**

##### *Solução injetável*

Ácido hialurônico	2%
Água	qsp 100%

##### *Creme*

Glicirrizina	0,02%
--------------	-------

Pentâmero (NAC – ácido glucurônico)5	0,002%
Retinol	0,00001%
Ácido esteárico	3,00%
mistura de mono-estearato de glicerila e de estearato de PEG (100 OE)	2,5%
Estearato de PEG (20 OE)	1,0%
Ciclopentadimetilsiloxano	10,00%
Óleos vegetais	7,00%
Óleos sintéticos	6,00%
Goma de silicone	0,20%
Álcool esteárico	1,00%
Água	qsp 100%

### REIVINDICAÇÕES

1. PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA OU COSMÉTICA, que compreende em um meio fisiologicamente aceitável, o ácido hialurônico, caracterizada pelo fato de que compreende adicionalmente pelo menos:

- 5
- um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados,
  - um oligossacarídeo, e
  - um inibidor da degradação do ácido hialurônico.

2. PREPARAÇÃO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o retinóide é o retinol.

10 3. PREPARAÇÃO, de acordo com uma das reivindicações 1 ou 2, caracterizada pelo fato de que o oligossacarídeo é um oligômero do ácido hialurônico.

4. PREPARAÇÃO, de acordo com uma das reivindicações 1 a 3, caracterizada pelo fato de que o inibidor da degradação do ácido hialurônico é escolhido entre a glicirrizina ou o ácido glicirretínico, seus derivados e/ou análogos, considerados sozinhos ou em mistura.

15 5. PREPARAÇÃO, de acordo com uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que é formulada para uma aplicação por via tópica.

20 6. PREPARAÇÃO, de acordo com uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que é formulada para uma aplicação por via parenteral.

7. PREPARAÇÃO, de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que se apresenta em forma de soluções ou suspensões para perfusão ou para injeção.

- 25 8. PRODUTO, caracterizado pelo fato de que contém:
- ácido hialurônico,
  - pelo menos um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados,

- pelo menos um oligossacarídeo e
- pelo menos um inibidor da degradação do ácido hialurônico, como produto de combinação para um uso simultâneo, separado ou escalonado ao longo do tempo, no tratamento de afecções dermatológicas.

5                    9.        PRODUTO, de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que compreende uma composição A que compreende o ácido hialurônico em forma de solução injetável, associada a uma composição B que compreende pelo menos:

- um inibidor da degradação do ácido hialurônico,
- 10                   - um oligossacarídeo, e
- um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados, em forma de composição para aplicação tópica.

15                   10.        PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE UMA PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA OU COSMÉTICA, conforme definida em uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que compreende a etapa de mistura de uma quantidade eficaz de ácido hialurônico, de pelo menos um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados, de pelo menos um oligossacarídeo, e de pelo menos um inibidor da degradação do ácido hialurônico.

20                   11.        PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE UM PRODUTO, conforme definido na reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que compreende:

- uma primeira etapa de preparação de uma solução injetável, que compreende a mistura do ácido hialurônico com um meio fisiologicamente
- 25                   aceitável,
- uma segunda etapa de preparação de uma composição apropriada para a via tópica, que compreende a mistura de pelo menos um retinóide e/ou seus sais e/ou seus derivados, com pelo menos um

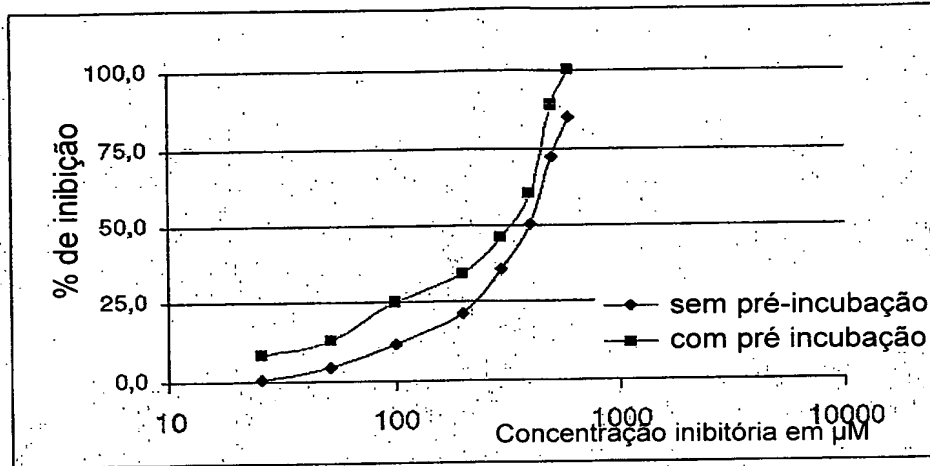
oligossacarídeo e pelo menos um inibidor da degradação do ácido hialurônico em um meio fisiologicamente aceitável.

5 12. USO DE UMA PREPARAÇÃO, conforme definida em uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento destinado ao tratamento e/ou à prevenção das afecções dermatológicas.

13. USO DE UMA PREPARAÇÃO, conforme definida em uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento destinado a ser utilizado nas cirurgias reparadoras.

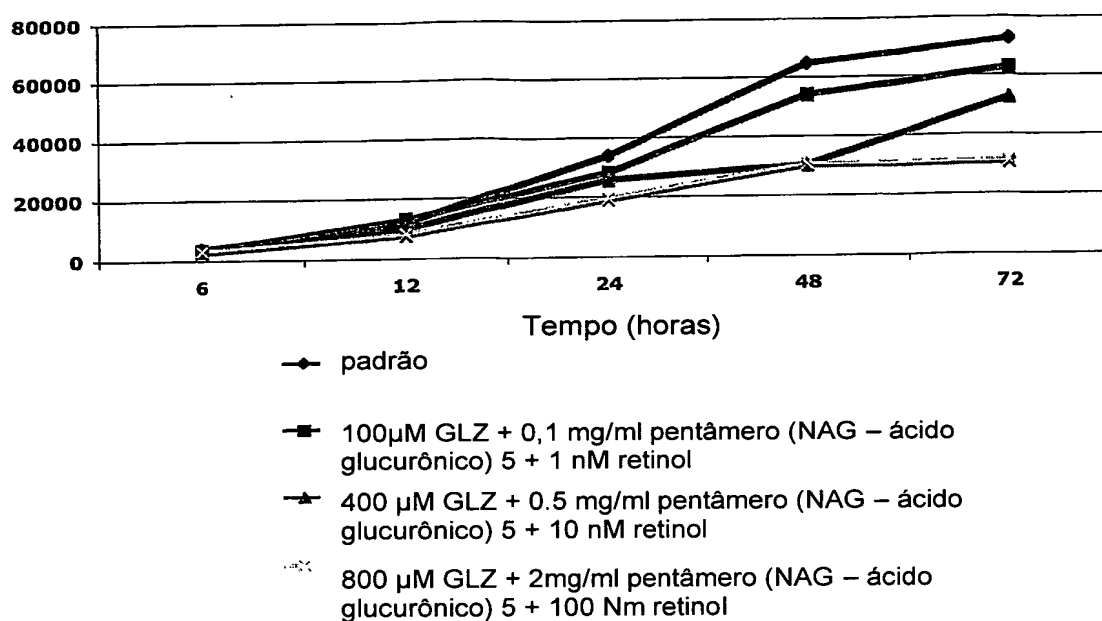
10 14. USO DE UMA PREPARAÇÃO, conforme definida em uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que é para a fabricação de um medicamento destinado ao tratamento por preenchimento das rugas, ruguinhas, depleções fibroblásticas e cicatrizes.

15 15. USO DE UMA PREPARAÇÃO, conforme definida em uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que é um implante dérmico.



Efeito de GLZ sobre a hialuronidase bovina

**Fig. 1**



Efeito da associação "GLZ + pentâmero (NAG – ácido glucurônico) 5 + retinol" sobre a neo-sínteses do ácido hialurônico pelos queratinócitos humanos normais

**Fig. 2**

DI 0621122-4

RESUMO

**“PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA OU COSMÉTICA, PRODUTO,  
PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE UMA PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA  
OU COSMÉTICA, PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE UM PRODUTO E  
USOS DE UMA PREPARAÇÃO”**

5

A presente invenção trata de uma preparação farmacêutica ou cosmética para aplicação tópica ou parenteral que compreende, em um meio fisiologicamente aceitável, ácido hialurônico, pelo menos um retinóide ou seus sais e derivados, pelo menos um oligossacarídeo, e pelo menos um inibidor da degradação do ácido hialurônico. A presente invenção se aplica em particular ao campo da dermatologia humana ou da cirurgia reparadora.

10