

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2002.04.22	(73) Titular(es): THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA
(30) Prioridade(s): 2001.04.20 US 284884 P	UNIV.-IND. LIAI. OFF.,SUITE 103-6190
(43) Data de publicação do pedido: 2004.03.03	AGRONOMY ROAD VANC.,BRITISH COLUMBIA
(45) Data e BPI da concessão: 2007.06.06 026/2007	V6T 1Z3 CA
	(72) Inventor(es):
	JOHN K. JACKSON CA
	JASON ZASTRE CA
	HELEN M. BURT CA
	(74) Mandatário:
	PEDRO DA SILVA ALVES MOREIRA
	RUA DO PATROCÍNIO, N.º 94 1399-019 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **SISTEMAS DE DISTRIBUIÇÃO MICELARES DE FÁRMACOS PARA FÁRMACOS HIDROFÓBICOS.**

(57) Resumo:
SISTEMAS DE DISTRIBUIÇÃO MICELARES DE FÁRMACOS PARA FÁRMACOS HIDROFÓBICOS.

RESUMO

"SISTEMAS DE DISTRIBUIÇÃO MICELARES DE FÁRMACOS PARA FÁRMACOS HIDROFÓBICOS"

Esta invenção proporciona composições compreendendo um fármaco hidrofóbico, um polímero biocompatível formador de micelas e um polímero biocompatível de baixo peso molecular, solúvel em água. São também proporcionados dispositivos para injeção de tais composições e para utilização de tais composições para formar, dentro do corpo de um doente, micelas contendo um fármaco hidrofóbico.

DESCRIÇÃO

"SISTEMAS DE DISTRIBUIÇÃO MICELARES DE FÁRMACOS PARA FÁRMACOS HIDROFÓBICOS"

Campo da Invenção

Esta invenção refere-se a composições micelares para formulação de fármacos e distribuição de fármacos.

Antecedentes da Invenção

Há um grande número de compostos terapêuticos que, devido à fraca solubilidade em água, não se dissolverão bem em transportadores farmacêuticos aquosos (tornando a administração difícil) e exibem fraca disponibilidade. Uma solução foi reformular tais fármacos como derivados solúveis em água. Esta abordagem conduz muitas vezes a compostos com menos eficácia do que a do composto precursor.

Outra solução foi incorporar fármacos hidrofóbicos em micelas. É expectável que tais formulações micelares atinjam algum nível de concentração de circulação do fármaco sem precipitação do fármaco na corrente sanguínea. O princípio por detrás da formação de micelas é que as moléculas anfifílicas podem formar agregados num ambiente aquoso através do qual os componentes hidrofóbicos das moléculas se juntam para excluir a água e constituir o núcleo interior da micela. Os componentes hidrofílicos das moléculas estão orientados na direcção do

exterior da micela. Esta agregação ocorre acima da concentração micelar crítica (CMC) das moléculas em água. Sob condições cuidadosas, os fármacos hidrofóbicos podem ser solubilizados no núcleo interior hidrofóbico das micelas durante a sua formação. Estas formulações micelares são utilizadas quase exclusivamente para a administração sistêmica de fármacos e são usualmente fornecidas intravenosamente ou intraperitonealmente, mas também têm sido sugeridas para administração oral.

A literatura descreve numerosos métodos para incorporar fármacos hidrofóbicos, tais como metotrexato, indometacina, paclitaxel e doxorubicina em micelas preparadas a partir de moléculas poliméricas anfifílicas e biocompatíveis (e. g., Patente US 6322805; Kim SY *et al.*, *J. Controlled Release* **56**:13-22 (1998); Inoue T *et al.*, *J. Controlled Release* **51**:221 (1998); e, Kataoka K., *J. Controlled Release* **64**:143-153 (2000)). Apesar da literatura descrever a formação de micelas contendo fármaco hidrofóbico, estando o fármaco hidrofóbico e o polímero formador de micelas em solução aquosa durante agitação vigorosa ou sonicação da solução, a quantidade de carga do fármaco é fraca como resultado da sua baixa solubilidade. Assim, as composições micelares são tipicamente preparadas a partir da dissolução de um fármaco hidrofóbico num solvente orgânico miscível com a água no qual o fármaco é solúvel, combinando a solução resultante com uma composição micelar numa solução aquosa, com mistura através de mistura vigorosa, agitação ou sonicação. Por exemplo, a mistura pode ser agitada até cerca de 24 horas e é depois removido qualquer fármaco remanescente não incorporado nas micelas. A solução micelar resultante pode então ser utilizada directamente para administração ou liofilizada na forma de nanopartículas (as quais podem ser, mais tarde, ressuspensas em água) desde que o solvente seja biocompatível e/ou capaz de

ser removido por liofilização ou outros métodos. Estes métodos são complicados, dispendiosos e expõem, potencialmente, fármacos lábeis em água a longos períodos em meio aquoso. Além disso, há uma necessidade de remover o solvente orgânico, o que não é muitas vezes farmacologicamente compatível ou desejável.

Um processo para remoção de um solvente orgânico é através da evaporação do solvente. Neste método, um fármaco hidrofóbico é tipicamente dissolvido num solvente orgânico miscível em água e introduzido numa solução aquosa de micelas. Subsequentemente, o solvente orgânico é removido por evaporação a temperatura elevada. Alternativamente, o fármaco e um polímero formador de micelas são ambos dissolvidos num solvente orgânico e o solvente é evaporado a temperatura elevada. A mistura resultante é mantida a uma temperatura elevada enquanto é adicionada água morna ou solução aquosa com mistura vigorosa, até que sejam formadas as micelas poliméricas contendo o fármaco. Também pode ser utilizado um método de diálise, em que é utilizado um solvente orgânico miscível em água adequado para dissolver o fármaco hidrofóbico e o polímero formador de micelas. A solução é subsequentemente dialisada contra uma solução tampão e depois contra água. Nalguns casos a duração da diálise pode ser tão prolongada quanto 72 horas (Yu B.G. *et al.*, *J. Controlled Release* **56**:285-291 (1998)).

A Patente US 4745160 (Churchill J.R. *et al.*) ensina um processo para a preparação de composições micelares a partir de anfifílicos copolímeros e biodegradáveis. A patente ensina que, por forma a incorporar um fármaco hidrofóbico é necessário dissolver o fármaco num solvente orgânico miscível em água, tal com dioxano, ácido acético, acetonitrilo, metanol ou etanol.

A Patente US 5510103 (Yokoyama M. et al.) e a Patente US 5939453 (Heller J. et al.) descrevem micelas feitas de copolímeros de blocos, nas quais os fármacos hidrofóbicos estão fisicamente capturados. Contudo, os métodos de captura divulgados requerem aquecimento, ultrassonicação e/ou a utilização de solventes orgânicos e diálise.

A Patente US 6136846 (Rubinfeld J. et al.) descreve a incorporação do paclitaxel nas micelas preparadas a partir dos copolímeros de bloco anfifílicos, nas quais o bloco hidrofóbico é uma cauda lipídica. São utilizados solventes orgânicos mas a patente também ensina que pode ser utilizado, como "solubilizante", o polietilenoglicol (PEG) de peso molecular 300-400. Nos exemplos expostos na patente, é descrita a carga de cerca de 2% de Paclitaxel.

Zhang X. et al. (*Int'l. J. Pharmaceutics* **132**:195-206 (1996)) descreve a formação de uma matriz contendo taxol e um copolímero de dibloco composto de metoxipolietilenoglicol (MePEG) e ácido poliláctico. Apenas se a matriz for feita com acetonitrilo como solvente orgânico, a matriz resultante será capaz de formar micelas após a evaporação do solvente. A matriz resultante deve ser aquecida para fundir o polímero e agitada vigorosamente em meio aquoso de modo a produzir micelas contendo fármaco.

Na Patente W09921908, Zhang, X. et al., ensina a produção de uma mistura polimérica semissólida compreendendo fármaco hidrofóbico, um polímero solúvel em água, tal como MePEG, e um polímero hidrofóbico. Verificou-se que o fármaco hidrofóbico precipita na mistura solidificando assim o material.

Sumário da Invenção

A invenção proporciona composições micelares para carregamento melhorado de fármacos hidrofóbicos e composições compreendendo fármacos hidrofóbicos capazes de formar micelas contendo fármacos, as quais podem ser preparadas sem um solvente orgânico não-polimérico e sem aquecimento ou agitação. Esta invenção permite a formulação e administração não-oral, por injeção, de misturas semissólidas no corpo de um doente, em que o material semi-sólido forma espontaneamente micelas contendo o fármaco hidrofóbico que entram na corrente sanguínea.

Num aspecto, a presente invenção proporciona o carregamento melhorado de fármacos hidrofóbicos em micelas, através da utilização de copolímeros de dibloco anfifílicos seleccionados, incluindo os descritos por Zhang et al. (1996), sem ser requerido um solvente orgânico, tal como acetonitrilo. As micelas são formadas a partir de uma composição formadora de micelas compreendendo um polímero solúvel em água e biocompatível, de baixo peso molecular, (incluindo o "solubilizante" PEG ensinado na Patente US 6136846, e as composições formadoras de micelas deste aspecto da invenção exibem baixas concentrações micelares críticas (CMC), abaixo de cerca de 500 μM , até tão baixas quanto cerca de 20 μM como determinado por técnicas convencionais. O carregamento do fármaco hidrofóbico utilizando este aspecto da invenção pode atingir níveis do fármaco na composição micelar acima de 10% (em peso) e tão elevados quanto cerca de 25%, quando a CMC é de cerca de 50 μM ou inferior. Isto é surpreendente uma vez que Zhang et al. (1996) verificaram que tais formulações de copolímeros de dibloco requeriam acetonitrilo para distribuir

adequadamente o taxol numa matriz de modo que as micelas fossem produzidas a partir da matriz. A Patente W09921908 sugere que, preparando uma composição polimérica compreendendo um polímero livre solúvel em água e um fármaco hidrofóbico, irá originar a precipitação do fármaco, o que é contraproducente para a produção de micelas. Além disso, Zhang *et al.* (1996) sugerem que numa matriz, as quantidades crescentes de um polímero solúvel em água (MePEG) originam uma produção menos eficaz de micelas a partir da matriz e fraca distribuição do fármaco na matriz.

Este aspecto da invenção proporciona uma composição formadora de micelas compreendendo:

- (a) um ou mais fármacos hidrofóbicos;
- (b) um ou mais polímeros biocompatíveis formadores de micelas; e,
- (c) um ou mais polímeros biocompatíveis e solúveis em água, de baixo peso molecular, em que o polímero formador de micelas é um copolímero compreendendo uma porção hidrofóbica e uma hidrofílica, sendo a porção hidrofóbica seleccionada do grupo consistindo em: um poliéster e um polianidrido; e, sendo a porção hidrofílica um óxido de polietileno com um peso molecular de cerca de 750 ou superior. São também proporcionadas micelas formadas a partir da composição já mencionada.

Um segundo aspecto da invenção resulta da descoberta de que uma composição micelar compreendendo um polímero biocompatível formador de micelas; um polímero biocompatível e solúvel em água, de baixo peso molecular; e um fármaco hidrofóbico, pode ser formulada como um material semi-sólido (e. g., uma substância semelhante a cera ou uma pasta) capaz de ser injectado num doente e o qual irá formar espontaneamente micelas contendo o fármaco no local da deposição do material no doente.

O polímero solúvel em água pode ser um que seja líquido ou semi-sólido a cerca da temperatura ambiente (e. g., a cerca de 20-30 °C). Uma vez que o material tenha sido injectado num doente ou seja simplesmente colocado numa solução aquosa, irá formar micelas contendo o fármaco hidrofóbico, sem a necessidade de aquecimento ou agitação. Este aspecto da invenção tem a vantagem de proporcionar a localização de um fármaco, de curto a médio prazo, num local específico de injeção num doente, com o fármaco a ser libertado no interior das micelas para o ambiente fisiológico do local e, por último, para a corrente sanguínea. Este aspecto da invenção inclui composições compreendendo um fármaco hidrofóbico, um polímero biocompatível formador de micelas, e uma quantidade suficiente de um polímero biocompatível e solúvel em água, de baixo peso molecular, tal que a composição seja um semi-sólido (e. g., uma "pasta") a temperaturas de, ou cerca da temperatura ambiente, e seja injectável através de uma seringa.

Este aspecto da invenção proporciona uma composição formadora de micelas compreendendo:

- (a) um ou mais fármacos hidrofóbicos;
- (b) um ou mais polímeros biocompatíveis, formadores de micelas; e,
- (c) um ou mais polímeros biocompatíveis, de baixo peso molecular, solúveis em água, em que um ou mais polímeros solúveis em água estão presentes numa quantidade suficiente para que a composição seja injectável.

Esta invenção também proporciona métodos para a utilização das composições já mencionadas para formar micelas *in vitro* e *in vivo*. As metodologias, *in vivo*, incluem a injeção da

composição num local do corpo de um doente, onde são formadas localmente as micelas contendo fármaco.

Esta invenção também proporciona dispositivos de injeção, tais como uma seringa, contendo uma composição formadora de micelas de acordo com esta invenção.

Breve Descrição das Figuras

A **Figura 1** é um gráfico mostrando a distribuição dimensional das micelas com um pico a uma dimensão de diâmetro de partícula de aproximadamente 10 nm. A distribuição dimensional foi medida num Zetasizer 3000HS a uma temperatura de 25 °C, com uma velocidade de contagem de 12,0 kCps, com um ângulo de detecção de 90,00 e a um comprimento de onda de 633,0.

Descrição detalhada da invenção

Na descrição que se segue são utilizados extensivamente vários termos, sendo proporcionado as seguintes definições para facilitar a compreensão da invenção.

Como aqui utilizado, "polímero formador de micelas" refere-se a um polímero anfifílico que compreende tanto um componente hidrofílico como um hidrofóbico e o qual é capaz de formar micelas em água. São conhecidos numerosos exemplos e estão divulgados na técnica. Os polímeros formadores de micelas incluem os copolímeros de bloco (e. g., dibloco) compreendendo um bloco hidrofóbico e um bloco hidrofílico, tal como está divulgado nos documentos da técnica anterior acima referidos e

na Patente W001/87345. Os polímeros formadores de micelas conhecidos na técnica que são utilizados nesta invenção são aqueles que são biocompatíveis e, portanto, farmacologicamente adequados. Tal é o caso dos polímeros específicos aqui divulgados.

Como aqui utilizado, um "fármaco hidrofóbico" é um fármaco insolúvel em água. Um "fármaco" é uma substância terapeuticamente activa que é proporcionada a um indivíduo vivo para produzir um efeito desejado, tal como tratar um estado do indivíduo. Também é proporcionado profilaticamente um fármaco a um indivíduo para prevenir o desenvolvimento de um estado ou para reduzir a gravidade de um estado que o indivíduo pode desenvolver. Um "fármaco insolúvel em água" tem uma solubilidade inferior a 0,1 mg/mL em água destilada a 25 °C. Dentro do contexto da presente invenção, podem também ser referidos um "fármaco fracamente solúvel" (solubilidade: 1-10 mg/mL) e um "fármaco muito fracamente solúvel" (solubilidade: 0,1-1 mg/mL). Estes termos são bem conhecidos dos especialistas na técnica. Ver, e. g., Martin (ed.), *Physical Pharmacy*, Quarta Edição, página 213 (Lea e Febiger, 1993). Exemplos de fármacos hidrofóbicos incluem os seguintes agentes, incluindo os seus derivados e análogos solúveis em água:

- (a) Anfotericina: utilizada para o tratamento ou prevenção de infecção de uma ferida aberta por administração tópica, ou para o tratamento ou prevenção de uma infecção numa ferida exposta após cirurgia por aplicação local. A anfotericina é um fungicida e é insolúvel em água com pH 6 a 7 (*The Merck Index*).

- (b) Antralina: utilizada para o tratamento da psoríase "húmida" por aplicação tópica. A antralina é um agente para terapia da psoríase e é praticamente insolúvel em água (*The Merck Index*).
- (c) Beclometasona: utilizada para a redução da inflamação localizada por aplicação perioftálmica e dentro das pálpebras ou intranasal (e. g., para o tratamento da rinite). A beclometasona é um corticosteróide e é muito fracamente solúvel em água. Ver, por exemplo, Gennaro, (ed.), *Remington's Pharmaceutical Sciences*. 17^a Edição (Mack Publishing Company, 1985).
- (d) Betametasona: utilizada para a redução da inflamação localizada por aplicação oral (e. g., úlcera aftosa), intravaginal e intra-rectal. A betametasona é um corticosteróide e tem uma solubilidade em água de 190 µg/mL. Ver, por exemplo, Gennaro, (ed.), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17^a Edição (Mack Publishing Company, 1985).
- (e) Camptotecina: utilizada para o tratamento de doenças envolvendo a proliferação celular, tais como cancro, artrite, psoríase, restenose, aderências cirúrgicas. A camptotecina tem uma solubilidade em água de 1-2 µg/mL.
- (f) Curcumina: um fármaco antioxidante potente e antiartrítico potencial. A curcumina é praticamente insolúvel em água.
- (g) Dexametasona: utilizada para a redução da inflamação localizada por aplicação oral (e. g., remoção dos dentes do

siso). A dexametasona é um corticosteróide e tem uma solubilidade em água de 10 µg/mL (*The Merck Index*).

- (h) Genisteína: um inibidor da tirosina cinase e utilizado potencialmente para o tratamento de doenças envolvendo a proliferação celular. A genisteína é praticamente insolúvel em água.
- (i) Indometacina: utilizada para o tratamento de sintomas de gota por injeção intra-articular ou intramuscular, ou para a redução da inflamação localizada por aplicação perioftálmica e dentro das pálpebras, oral, intranasal, intravaginal e intra-rectal. A indometacina é um anti-inflamatório não-esteróide (AINE) e é praticamente insolúvel em água (*The Merck Index*).
- (j) Lidocaína: proporciona anestesia local por injeção intramuscular ou através de administração por aplicação nas membranas mucosas, incluindo perioftálmica e dentro das pálpebras, oral, intranasal, intravaginal e intra-rectal. A lidocaína é um anestésico local e é praticamente insolúvel em água. Ver, por exemplo, Gennaro, (ed.), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17^a Edição, (Mack Publishing Company, 1985).
- (k) Taxol (e. g., Paclitaxel): utilizado para o tratamento de doenças relacionadas com angiogénese, tais como artrite, cancro, restenose, psoríase ou aderências cirúrgicas. O paclitaxel tem uma solubilidade em água de 1-2 µg/mL.
- (l) Tetraciclina: utilizada para o tratamento de infecções oculares por aplicação perioftálmica e dentro das

pálpebras. A tetraciclina é um antibacteriano e tem uma solubilidade em água de 400 pg/mL. Ver, e. g., Gennaro, (ed.), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17^a Edição, (Mack Publishing Company, 1985).

- (m) Tretinoína: um ácido retinóico que é potencialmente um agente anticancerígeno. A tretinoína é praticamente insolúvel em água.
- (n) Proteínas terapêuticas: proteínas que são praticamente insolúveis em água, tais como a insulina, são consideradas para utilização neste sistema de distribuição de fármacos poliméricos presentemente descrito.

A presente invenção não requer a utilização de um solvente orgânico como utilizado tradicionalmente para dissolução de um fármaco hidrofóbico durante a preparação das micelas contendo fármaco. O termo "solvente orgânico", como aqui utilizado com referência a esta invenção, significa um solvente não polimérico, tal como um hidrocarboneto aromático, éster, éter, cetona, amina, álcool, hidrocarboneto azotado e hidrocarboneto clorado, em que os solventes não-poliméricos incluem: acetona, etanol, tetra-hidrofurano, acetonitrilo e pirrolidonas. Alguns destes solventes orgânicos não são biocompatíveis, e os solventes orgânicos não são adequados para injeção em várias áreas do corpo do doente, particularmente os olhos, vasos sanguíneos ou a articulação sinovial.

Esta invenção utiliza um polímero biocompatível e solúvel em água, de baixo peso molecular, em vez de um solvente orgânico, como acima definido. Isto evita a necessidade de remoção de um solvente orgânico e permite a formação de micelas

contendo um fármaco hidrofóbico, sem aquecimento, agitação, mistura vigorosa ou sonicação. Também torna possível a preparação de um semi-sólido capaz de formar micelas, *in vivo*, para administração por injeção a um doente.

O termo "injectável", como aqui utilizado, refere-se a composições com uma viscosidade que permite a injeção do material no corpo de um doente utilizando uma seringa e uma cânula de agulha com a quantidade de pressão necessária para injectar o material, sendo a que possa ser exercida confortavelmente através de pressão manual. O material com viscosidade entre cerca de 5 e cerca de 200 poise, a qual pode ser medida utilizando técnicas conhecidas (por exemplo, com um reómetro de pratos paralelos). O material que é injectável de acordo com esta invenção, é injectável numa gama de temperaturas típica para a injeção. De um modo preferido, o material é injectável desde cerca da temperatura ambiente até cerca da temperatura corporal. De um modo muito preferido, o material é injectável numa gama de temperaturas desde cerca de 20 °C até cerca de 40 °C.

Os termos "substancialmente livre de...." ou "não contendo substancialmente...", com referência a um possível ingrediente numa composição, significa que a composição não compreende nenhum, ou essencialmente nenhum dos ingredientes. Com esta definição, o ingrediente pode estar presente na composição em quantidades tão pequenas que não afectam as propriedades ou utilidade farmacêutica da composição.

As composições formadoras de micelas de acordo com esta invenção, podem ser preparadas utilizando técnicas convencionais, com os quais os ingredientes poliméricos

requeridos e um fármaco hidrofóbico são cuidadosamente misturados ou intercombinados. Podem ser utilizados processos mecânicos de mistura, tais como são ensinados nos Exemplos, adiante. O objectivo é alcançar uma mistura cuidadosa dos ingredientes da composição.

Os dispositivos de injeção, tais como seringas, podem ser preparados de modo a conterem as composições formadoras de micelas desta invenção, através da utilização de qualquer técnica com a qual a composição seja colocada dentro do dispositivo de injeção de uma forma que a composição se torne injectável pelo dispositivo. Por exemplo, a composição desta invenção pode ser colocada dentro do corpo de uma seringa por meios mecânicos ou extrusão.

As composições desta invenção podem ser armazenadas durante períodos de tempo consideráveis. Quando, numa composição desta invenção, está presente um fármaco hidrofóbico, é preferido que a composição seja armazenada a uma temperatura abaixo da temperatura ambiente, de acordo com os parâmetros de estabilidade do fármaco seleccionado.

As composições desta invenção podem ser colocadas em recipientes estéreis para subsequente formulação farmacêutica. Tal recipiente pode ser um frasco selado, o qual conterá, de um modo preferido, espaço suficiente para a adição subsequente de um transportador aquoso fisiologicamente aceitável. Assim, as composições desta invenção podem ser utilizadas para produção de micelas contendo fármaco dentro do recipiente já referido, após introdução do transportador aquoso. A dissolução da composição no transportador com a formação concomitante das micelas contendo fármaco, pode ser acelerada por agitação (e. g.,

abanando), embora as composições desta invenção, sem agitação, se dissolvam ao longo do tempo. Não é necessária agitação vigorosa ou a longo prazo, ou sonicação.

Os métodos para administração de composições de acordo com esta invenção e as suspensões micelares contendo fármaco preparadas a partir de tais composições, podem ser efectuados de acordo com métodos conhecidos na técnica. As metodologias para injeção de tais composições ou soluções num local seleccionado o corpo de um doente, podem ser seleccionadas e realizadas por um profissional em medicina.

Para as composições injectáveis desta invenção, a composição irá compreender um ou mais polímeros biocompatíveis formadores de micelas. Tais polímeros formadores de micelas podem ser quaisquer polímeros conhecidos na técnica, incluindo as referências acima mencionadas e a Patente WO01/87345. De um modo preferido, um ou mais polímeros formadores de micelas em composições desta invenção, será um copolímero de dibloco adequado para formação de micelas, como ensinado na técnica, ou como especificamente aqui descrito. As porções hidrofóbicas de tais copolímeros de dibloco podem compreender um ou mais polímeros hidrofóbicos, tais como poliésteres, polianidridos, ácidos poliglicólicos, polibutirilactonas, poli-hidroxibutiratos, ácidos polilácticos e policaprolactonas. A porção hidrofóbica do copolímero pode compreender um ou mais polímeros hidrofóbicos diferentes, em orientação aleatória ou de bloco. De um modo preferido, a porção hidrofóbica de um copolímero terá um peso molecular desde cerca de 200 até cerca de 5000.

Os polímeros formadores de micelas preferidos acima descritos, são capazes de formar micelas a concentrações

micelares críticas (CMC) muito baixas, o que permite a carga de concentrações elevadas de fármacos hidrofóbicos.

As porções hidrofílicas preferidas de copolímeros formadores de micelas que podem ser utilizadas nesta invenção têm um peso molecular de cerca de 750 ou superior, até cerca de 8000. De um modo preferido, o peso molecular estará na gama de cerca de 1000 ou 2000-3000, ou 5000. De um modo muito preferido, o peso molecular do polímero, enquanto parte hidrofílica do polímero formador de micelas é de cerca de 2000.

Polímeros biocompatíveis solúveis em água para utilização nesta invenção incluem quaisquer polímeros solúveis em água adequados capazes de fluidizar um polímero formador de micelas, tal como utilizado nesta invenção. Tais polímeros solúveis em água incluem plurónicos, que são líquidos ou sólidos à temperatura ambiente, ou poliésteres de baixo peso molecular, tais como ácido glicólico ou láctico, polímeros de peso molecular suficientemente baixo para que o polímero seja um líquido ou semi-sólido à temperatura ambiente (e. g., cerca de 20 a 30 °C). Os polímeros solúveis em água preferidos para utilização nesta invenção são os óxidos de polietileno com um peso molecular de cerca de 1000 ou inferior, incluindo PEG e MePEG.

As proporções em peso de componentes hidrofóbicos e hidrofílicos dos polímeros formadores de micelas utilizados nesta invenção podem ser ajustadas para proporcionar uma CMC desejada. A quantidade de polímero solúvel em água utilizada nas composições desta invenção pode ser ajustada para atingir uma consistência desejada da mistura da matriz resultante. Para injeção, é preferido que a quantidade de polímero solúvel em

água seja tal que a mistura ou matriz resultante seja injectável, como aqui definido. A quantidade de fármaco hidrofóbico incluído na composição será tal que proporciona uma quantidade desejada de micelas carregadas de fármaco, de um modo preferido, não excedendo uma quantidade que possa ser suficientemente distribuída dentro da composição formadora de micelas.

Exemplo 1

Preparação de copolímero de dibloco

Os oligómeros metoxipoli(etilenoglicol) (MePEG) de peso molecular 750 e 2000 e o octoato estânico foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), enquanto a ϵ -caprolactona foi obtida da Aldrich (Milwaukee, WI). O clorofórmio e o diclorometano (DCM) eram de grau HPLC (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ).

Foram preparados copolímeros de metoxipoli(etilenoglicol) (MePEG) e poli(ϵ -caprolactona), como se segue. Os oligómeros MePEG com pesos moleculares de 750 e 2000 foram combinados com ϵ -caprolactona em as proporções em peso variáveis para controlar o peso molecular final do copolímero. O peso total dos dois reagentes foi 50 g. Os reagentes foram colocados num balão de fundo redondo selado com uma tampa de vidro esmerilhado e imerso num banho de óleo mineral denso aquecido até 140 °C. A temperatura foi controlada utilizando um controlador Dyna Sense MK-1 (Scientific Instruments Inc., Skokie, IL). Os reagentes foram agitados utilizando uma barra de agitação magnética revestida com teflon de 2,5 cm. Após os reagentes serem misturados durante 30 minutos para produzir um líquido

homogêneo, foi adicionado ao balão 0,15 mL de octoato estanoso. A reacção de polimerização foi deixada prosseguir durante 6 horas. O arrefecimento do polímero até à temperatura ambiente terminou a reacção.

Exemplo 2A

Preparação de uma formulação micelar de paclitaxel

Foram pesados num frasco de vidro de 20 mL e agitados a 50 °C, utilizando uma espátula, cinquenta mg de paclitaxel (Hauser Chemicals), 380 mg de metoxipoli-etilenoglicol (MePEG) (peso molecular 350) (Union Carbide Inc.) e 570 mg de copolímero de dibloco (ácido poli-L-láctico/MePEG) (Angiotech Pharmaceuticals, Vancôver, Canadá). A mistura formou uma composição miscível na qual todo o fármaco ficou dissolvido. A mistura foi aspirada para uma seringa de 1 mL através de uma agulha de calibre 18 e deixada arrefecer até à temperatura ambiente.

O material ceroso pôde ser facilmente injectado através de uma agulha de calibre 21 sem comprometer a integridade da composição. Quando 100 µL da mistura foram injectados em 5 mL de água, a mistura dissolveu-se lentamente. Não houve precipitação de qualquer dos componentes. A formulação autoagregou-se em micelas com uma dimensão de partícula de aproximadamente 10 nm de diâmetro, como mostrado na **Figura 1**. Esta solução tinha uma concentração de paclitaxel de 1 mg/mL, quase 1000 vezes superior à da solubilidade livre do fármaco em água.

Exemplo 2B

Preparação de formulação micelar alternativa de paclitaxel

Foram pesados num frasco de vidro de 20 mL e agitados a 50 °C durante 5 a 10 minutos, utilizando uma espátula, 50 mg de paclitaxel (Hauser Chemicals), 95 mg de metoxipoli-etilenoglicol (MePEG) (peso molecular 350) (Union Carbide Inc.) 645 mg de copolímero de dibloco (ácido poli-L-láctico/MePEG) (Angiotech Pharmaceuticals, Vancôver, Canadá), 95 mg de cada um de policaprolactona-co-metoxipoli-etilenoglicol (cada um contendo 17 unidades de etilenoglicol no MePEG conjugado quer com uma unidade (PCL1) ou 5 unidades (PCL5) de caprolactona. A mistura formou uma composição miscível na qual todo o fármaco ficou dissolvido. A mistura foi aspirada para uma seringa de 1 mL através de uma agulha de calibre 18 e deixada arrefecer até à temperatura ambiente.

O material ceroso pôde ser facilmente injectado através de uma agulha de calibre 21 sem comprometer a integridade da composição. Quando 100 µL da mistura foram injectados em 5 mL de água, e a água acidificada até pH 1, a mistura dissolveu-se lentamente e não houve precipitação de qualquer dos componentes. A formulação autoagregou-se em micelas.

Exemplo 3

Injecção da formulação micelar de paclitaxel ao longo das margens perivasculares da artéria carótida de um rato para o tratamento da restenose

Foram anestesiados com halotano ratos Wistar pesando 400 g a 500 g. Foi feita uma incisão vertical sobre a traqueia e foi exposta a artéria carótida externa esquerda. Foi deixado intacto o tecido conjuntivo em torno da artéria carótida comum esquerda. Foram colocadas duas ligaduras em torno da artéria carótida esquerda e foi feita uma arteriotomia entre elas. Foi introduzido, na artéria carótida externa, um balão de "Fogarty French A 2" e pressionado para a artéria carótida comum esquerda e o balão foi cheio com soro fisiológico. O balão foi passado, por três vezes, para cima e para baixo ao longo do comprimento total da artéria carótida para estirar o vaso e desnudar o endotélio. O balão foi removido e foram desfeitas laqueações na artéria carótida externa. Foi injectada, através de um angiocateter 24 G entre um segmento distal da artéria carótida comum e o tecido conjunto envolvente, uma composição micelar autoformável carregada com 3% de paclitaxel, baseada em ácido poli-L-láctico/MePEG misturado com MePEG 350 numa proporção em peso de 60/40 (como descrito no Exemplo 2A). Tipicamente, em 4 injeções, foi aplicado 0,1 a 0,2 mL de pasta em torno da artéria, de modo a cobrir o perímetro total do vaso num comprimento de aproximadamente 1 cm. A ferida foi depois fechada e os animais reanimados.

Utilizando este método foram aplicadas várias doses de uma forma de dosagem polimérica do composto anti-restenose, o paclitaxel, do lado perivascular da artéria danificada sem a necessidade de exposição completa da artéria (como requerido para a aplicação de uma película polimérica na artéria). Os ratos toleraram bem este método de aplicação sem se notarem efeitos adversos em qualquer animal. Este exemplo demonstra um método não invasivo de aplicação de uma formulação micelar autoformável de paclitaxel. Neste exemplo particular, foi

utilizada alguma cirurgia invasiva para aplicar o cateter de balão. Contudo, em humanos, o cateter seria aplicado a partir de uma localização mais afastada sendo previsível que, em humanos, a pasta seria aplicada na artéria danificada através de um angiocateter sem exposição cirúrgica da artéria danificada. Não houve evidência de toxicidade com este método de injeção, nem sinal de precipitação do fármaco no local de injeção ao longo da artéria. Ao fim de duas semanas, os animais foram examinados quanto à presença de formulação residual ou toxicidade localizada indicativa de não biocompatibilidade. Em todos os animais tratados não houve formulação residual no local ou qualquer evidência de qualquer toxicidade nos animais. Claramente, o fármaco e composição polimérica foram solúveis e autoagregáveis numa formulação micelar do fármaco no local arterial *in vivo*.

Exemplo 4

Preparação de uma formulação micelar autoformável de paclitaxel carregada com 10% de paclitaxel

Foram pesados num frasco de vidro de 20 mL e agitados a 50 °C, utilizando uma espátula, quarenta mg de paclitaxel (Hauser Chemicals), 108 mg de metoxipolietilenoglicol (MePEG) (peso molecular 350) (Union Carbide Inc.) e 252 mg de copolímero de dibloco (ácido poli-L-láctico/MePEG) (Angiotech Pharmaceuticals, Inc., Vancôver, Canadá). A mistura formou uma composição miscível na qual todo o fármaco foi dissolvido. A mistura foi aspirada para uma seringa de 1 mL através de uma agulha de calibre 18 e deixada arrefecer até à temperatura ambiente.

O material ceroso pôde ser facilmente injectado através de uma agulha de calibre 21 sem comprometer a integridade da composição. Quando 100 μ L da mistura foram injectados em 5 mL de água, a mistura dissolveu-se lentamente. Não houve precipitação de qualquer dos componentes. A formulação autoagregou-se em micelas.

Embora a invenção precedente tenha sido descrita com algum detalhe a título ilustrativo e exemplificativo com objectivos de clarificação do entendimento, tornar-se-á facilmente evidente para os especialistas na técnica, à luz dos ensinamentos desta invenção, que podem ser aí feitas alterações e modificações sem sair do espírito ou âmbito das reivindicações anexas. Todas as patentes, pedidos de patente e publicações aqui referidas são, por este meio, incorporadas por referência.

Lisboa, 19 de Junho de 2007

REIVINDICAÇÕES

1. Composição formadora de micelas compreendendo:
 - (a) um ou mais fármacos hidrofóbicos;
 - (b) um ou mais copolímeros de bloco biocompatíveis formadores de micelas compreendendo uma porção hidrofóbica e uma hidrofílica; e,
 - (c) um ou mais polímeros biocompatíveis de baixo peso molecular, solúveis em água,em que um ou mais polímeros solúveis em água estão presentes numa quantidade suficiente para que a composição seja injectável e semissólida, e em que a porção hidrofóbica seja seleccionada do grupo consistindo em: um poliéster e um polianidrido; e a porção hidrofílica seja um óxido de polietileno.
2. Composição da reivindicação 1, em que a composição é substancialmente livre de solvente orgânico não-polimérico.
3. Composição da reivindicação 1 ou 2, em que o polímero de bloco é seleccionado do grupo consistindo em: ácido poliglicólico, polibutirilactona, poli-hidroxibutirato, ácido poliláctico e policaprolactona.
4. Composição da reivindicação 3, em que a porção hidrofóbica é um polímero com um peso molecular de cerca de 200 até cerca de 5000.
5. Composição de qualquer uma das reivindicações 1-4, em que o óxido de polietileno é seleccionado do grupo consistindo em polietilenoglicol (PEG) e metoxipolietilenoglicol (MePEG).

6. Composição da reivindicação 5, em que a porção hidrofílica é um polímero com um peso molecular de, pelo menos, 750.
7. Composição da reivindicação 6, em que o peso molecular é inferior a cerca de 8000.
8. Composição da reivindicação 6, em que o peso molecular é desde cerca de 1000 até cerca de 5000.
9. Composição da reivindicação 6, em que o peso molecular é desde cerca de 1000 até cerca de 3000.
10. Composição da reivindicação 6, em que o peso molecular é desde cerca de 1000 até cerca de 2000.
11. Composição da reivindicação 6, em que o peso molecular é de cerca de 2000.
12. Composição de qualquer uma das reivindicações 1-11, em que o polímero solúvel em água é seleccionado do grupo consistindo em: um óxido de polietileno, ácido poliláctico de baixo peso molecular, ácido poliglicólico de baixo peso molecular e um plurónico, em que o polímero solúvel em água é um líquido ou semi-sólido à temperatura ambiente.
13. Composição da reivindicação 12, em que o polímero solúvel em água é um óxido de polietileno.
14. Composição da reivindicação 13, em que o óxido de polietileno é seleccionado do grupo consistindo em PEG e MePEG.

15. Composição da reivindicação 13 ou 14, em que o óxido de polietileno tem um peso molecular de cerca de 1000 ou inferior.
16. Dispositivo para injeção de uma substância no corpo de um doente, em que o dispositivo compreende uma composição, de qualquer uma das reivindicações 1-15, para injeção.
17. Dispositivo da reivindicação 16, em que o dispositivo é uma seringa.
18. Dispositivo da reivindicação 17, em que a seringa compreende ainda uma cânula de agulha.
19. Método de formação de micelas compreendendo um fármaco hidrofóbico, em que uma composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-14 é colocada num meio aquoso.
20. Utilização de uma composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-14, para a preparação de um medicamento pretendido para injeção num local do corpo de um doente e sendo formadas micelas no local.
21. Utilização de uma composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-14, para a preparação de um medicamento pretendido para administração a um doente para formar, dentro do corpo do doente, micelas contendo fármaco hidrofóbico.

22. Utilização da reivindicação 21, em que a administração é por injeção num local do corpo de um doente e as micelas se formam no local.
23. Composição formadora de micelas compreendendo:
- (a) um ou mais fármacos hidrofóbicos;
 - (b) um ou mais polímeros biocompatíveis formadores de micelas; e,
 - (c) um ou mais polímeros biocompatíveis, de baixo peso molecular, solúveis em água,
- em que o polímero formador de micelas é um copolímero de bloco compreendendo uma porção hidrofóbica e uma hidrofílica, compreendendo a porção hidrofóbica um polímero de bloco seleccionado do grupo consistindo em: um poliéster e um polianidrido; e a porção hidrofílica é um óxido de polietileno com um peso molecular de cerca de 750 ou superior, e em que a composição é semissólida e injectável.
24. Composição da reivindicação 23, em que a porção hidrofóbica compreende um polímero de bloco seleccionado do grupo consistindo em: ácido poliglicólico, polibutirilactona, poli-hidroxibutirato, ácido poliláctico e policaprolactona.
25. Composição da reivindicação 23 ou 24, em que a porção hidrofóbica é um polímero com um peso molecular de cerca de 200 até cerca de 500.
26. Composição de qualquer uma das reivindicações 23-25, em que o polímero solúvel em água é um ácido poliláctico ou poliglicólico solúvel em água, de baixo peso molecular; um polímero plurónico solúvel em água; ou um óxido de

polietileno, em que o polímero solúvel em água é um líquido ou semi-sólido à temperatura ambiente.

27. Composição da reivindicação 26, em que o polímero solúvel em água é um óxido de polietileno com um peso molecular de cerca de 1000 ou inferior, seleccionado do grupo consistindo de PEG e MePEG.
28. Composição de qualquer uma das reivindicações 23-27, em que a quantidade de polímero solúvel em água na composição é suficiente para a composição ser injectável.
29. Composição de qualquer uma das reivindicações 23-28, em que a composição é substancialmente livre de solvente orgânico.
30. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 23-29, em que a composição é capaz de formar micelas em meio aquoso com uma concentração micelar crítica (CMC) de cerca de 500 μM ou inferior.
31. Composição de acordo com a reivindicação 30, em que a CMC é de cerca de 100 μM ou inferior.
32. Composição de acordo com a reivindicação 30, em que a CMC é de cerca de 50 μM ou inferior.
33. Método de formação de micelas compreendendo um fármaco hidrofóbico, em que uma composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 23-32 é colocada num meio aquoso através do qual as micelas compreendendo o fármaco hidrofóbico são aí formadas.

34. Método da reivindicação 33, em que a referida colocação é *in-vitro*.
35. Utilização de uma composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 23-32, para a preparação de um medicamento pretendido para a formação *in-vivo* de micelas contendo um fármaco hidrofóbico.
36. Utilização de uma composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 23-32, para a preparação de um medicamento para administração a um doente.

Lisboa, 19 de Junho de 2007

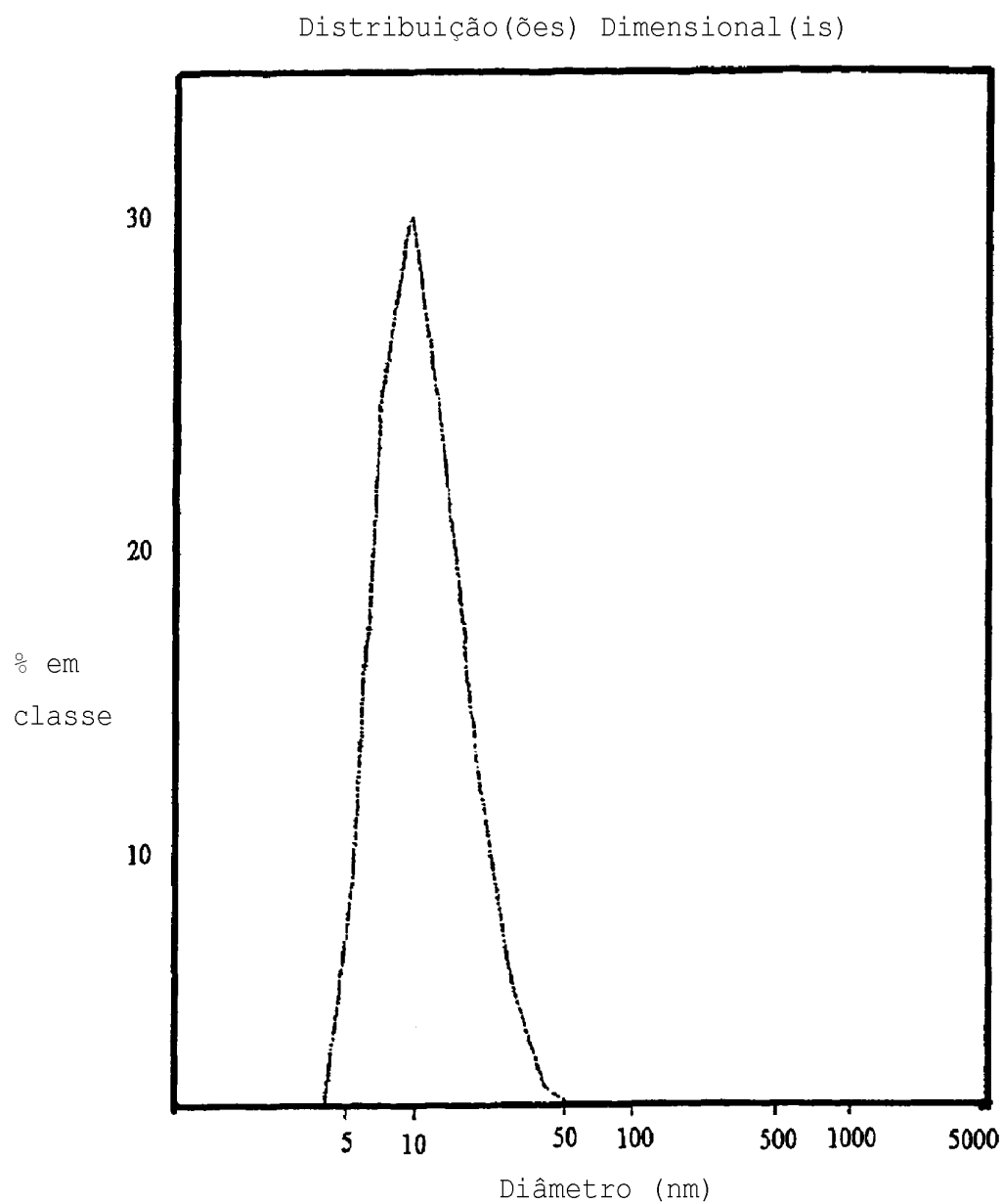


FIGURA 1