

**DESCRIÇÃO**  
**DA**  
**PATENTE DE INVENÇÃO**

**N.º 97 976**

**REQUERENTE:** APLICACIONES FARMACEUTICAS S.A. DE C.V., mexicana, com sede em Heriberto Frias 1035, 03100 México D.F., México.

**EPÍGRAFE:** "Processo de tratamento farmaco-técnico de uma substância activa, injectável e de formulações parentéricas".

**INVENTORES:** Juan Angeles Uribe e Josue Garza Flores.

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4.º da Convenção de Paris de 20 de Março de 1883.

França, em 14 de Junho de 1990 sob o n.º. 9007417.



PATENTE No. 97 976

"Processo de tratamento farmaco-técnico de uma substância activa, injectável e de formulações parentéricas".

para que

APLICACIONES FARMACEUTICAS S.A. DE C.V., pretende obter privilégio de invenção em Portugal.

#### RESUMO

O presente invento refere-se ao processo de tratamento farmaco-técnico de uma substância farmacologicamente activa, injectável, que permite um melhor controlo sobre as suas propriedades farmacocinéticas e farmacológicas, sendo a referida substância farmacologicamente activa susceptível de ser administrada por injeção parentérica a um mamífero, caracterizado por compreender a microesferonização da referida substância, de modo a obter-se microesferas sólidas, não porosas, com um diâmetro compreendido entre 5 e 300 micra que contêm a referida substância farmacologicamente activa numa estrutura esférica formada por, pelo menos, uma substância suporte farmacologicamente inactiva, estando a referida substância suporte, que forma a estrutura esférica, naturalmente presente no organismo do referido mamífero, e sendo estável no estado sólido até uma temperatura de pelo menos 60°C e no meio fisiológico receptor do dito mamífero, sendo a cinética de dissolução da substância suporte no organismo do mamífero receptor mais lenta do que a cinética de libertação da substância activa nesse mesmo organismo, e a separação das referidas microesferas em fracções calibradas segundo os seus diâmetros.

A substância farmacologicamente activa é escolhida, nomeadamente, de entre as substâncias que actuam sobre o sistema nervoso central (por exemplo: morfina) ou neurovegetativo, os vasodilata-

72 720  
3.L331.12 PT.4  
BIII/MD(JS)

-2-



dores, anti-histamínicos, antagonistas dos receptores  $H_2$ , esteróides e os analgésicos, e a substância suporte farmacologicamente inactiva é escolhida, nomeadamente, de entre o coprosterol, e ácido glicocólico, o colesterol e os ésteres de colesterol.

O invento refere-se ainda ao processo de preparação de formulações parentéricas contendo as referidas microesferas.

MEMÓRIA DESCRITIVA

O presente invento refere-se a um processo para melhorar o controlo das propriedades farmacocinéticas e farmacológicas de uma substância farmacologicamente activa injectável, sendo a referida substância farmacologicamente activa susceptível de ser administrada por injeção parentérica a um mamífero ou, eventualmente, a outros animais. Refere-se igualmente a uma microesfera sólida, não porosa, com um diâmetro compreendido entre 5 e 300  $\mu\text{m}$ , compreendendo pelo menos uma tal substância farmacologicamente activa, contida numa estrutura esférica formada por, pelo menos, uma substância suporte farmacologicamente inactiva, assim como à utilização de uma tal microesfera no fabrico de uma formulação destinada a administração parentérica por injeção.

ARTE ANTERIOR

Já se utilizaram substâncias biologicamente activas, fracamente solúveis em meio fisiológico, sob a forma de suspensão de partículas e administraram-se por injeção intramuscular, para obter uma dissolução lenta e, portanto, um efeito prolongado no organismo humano ou animal. As misturas de noretisterona e de mestranol, sob a forma de pó cristalino em suspensão aquosa, por exemplo, foram testadas tendo em vista o fabrico de um anticonceptivo injectável, intramuscular (J. Garza Flores e col, Contraception, Maio 1988, Vol. 35, nº.5, 471-481).

Estas composições da arte anterior apresentam, de modo geral, provavelmente devido às variações na granulometria e a irregularidades na forma das partículas, vários defeitos:

- curva de libertação das substâncias activas apresentando um forte pico imediatamente após a injeção, seguido de uma vertente descendente, o que aumenta a dose total, necessária para obter um efeito durável suficiente;

- formação ocasional de grumos ou crostas na suspensão;

- necessidade de utilizar agulhas hipodérmicas de grande diâmetro, para evitar o risco de bloqueio à saída da seringa.

Em certos casos, o contacto directo da partícula activa com o tecido vivo que a rodeia (concentração local muito grande) pode provocar reacções inflamatórias ou lesões.

As substâncias possuindo uma solubilidade elevada em meio fisiológico não podem ser administradas sob esta forma se se deseja obter um "efeito retardado". Um processo conhecido para frear a dissolução de tais substâncias é revesti-las ou microencapsulá-las.

A Patente EP N.º. 257 368 (AMERICAN CYANAMID CO) descreve uma composição, para utilização parentérica constituída por microesferas de gorduras e/ou ceras, de origem natural ou sintética, com baixo ponto de fusão ( $40^{\circ}$ -cerca de  $60^{\circ}$ ), carregadas de partículas de um polipéptido, por exemplo uma hormona de crescimento. Quando estas composições são injectadas em bovinos, a hormona de crescimento vê a sua libertação retardada pelo revestimento de cera ou de gordura, o que provoca um prolongamento da sua presença no organismo animal, levando a um aumento do crescimento ou da lactação. Estas microesferas têm tendência a deformar-se, a aglutinar-se ou a coalescer quando a temperatura ambiente é elevada, nomeadamente nos países tropicais ( $40-60^{\circ}\text{C}$ ) o que pode acarretar problemas de manutenção ou de armazenagem.

Como a proporção de polipéptido activo, na partícula, está limitada na prática a 30-40 %, a injeção destas partículas apresenta, igualmente, o inconveniente de injectar no organismo uma quantidade de substância portadora estranha a este organismo (cera de abelhas, gordura de origem vegetal, mineral ou sintética, etc) da ordem de, pelo menos, 1,5 - 3 vezes a da substância activa.

Na arte anterior foram utilizadas outras técnicas de revestimento ou de microencapsulamento, algumas das quais estão descritas, por exemplo, na "Encyclopédia of Chemical Technology, 3ª. edição, volume 15, páginas 470 a 493 (1981), JOHN WILEY AND SONS. As microcápsulas assim formadas contêm, frequentemente, partículas "centrais" de tamanho muito diferente, ou mesmo sem nenhuma

partícula central.

A Patente EP No. 210 875 (TERAGENIX CORP.) descreve a injeção de microesferas de vidro carregadas radioactivamente, no corpo, por exemplo no fígado, para tratar localmente um tumor canceroso. A presença remanescente de tais esferas, após tratamento, não se justifica senão em casos graves.

A eliminação da substância suporte pelas vias metabólicas do meio interior pode ser difícil; uma tal substância é aceitável para administração oral (e eliminação pelas vias digestivas) em medicina humana, mas muito menos para injeção parentérica em medicina humana.

Por outro lado, utilizaram-se hormonas esteroides como meio de contracepção, sob a forma de implantes subcutâneos. Estes implantes, com um comprimento de 0,5 a 2 cm, podem ser fabricados por fusão e conformação da hormona no estado fundido, pura ou misturada com um portador lipídico. Estes processos de fabrico estão descritos por exemplo na WO-88/07816 (Endocon) ou na patente EU 4 244 949 (Gupta). A duração de acção destes implantes pode ultrapassar um ano, mas por outro lado este sistema é incomodo para durações de acção desejadas apenas para algumas semanas. Exige a colocação por meio de incisão cirúrgica ou por trocar e eventualmente a remoção por excisão.

#### SUMARIO DO INVENTO

A finalidade do presente invento é a de fornecer formulações de libertação retardada para administração por injeção parentérica, por meio de agulha, ao homem ou a outros mamíferos, que permitem uma libertação controlada das substâncias farmacologicamente activas, sem apresentar os inconvenientes das suspensões de partículas ou das microcápsulas da arte anterior.

Esta finalidade é conseguida graças a um processo que consiste em colocar a referida substância sob a forma de microesferas sólidas não porosas, com um diâmetro compreendido entre 5 e



300 micra, compreendendo pelo menos uma substância farmacêutica-mente activa contida numa estrutura esférica formada por pelo menos uma substância suporte farmacologicamente inactiva, estando a referida substância suporte, que forma a estrutura esférica, naturalmente presente no organismo do referido mamífero, sendo estável no estado sólido até à temperatura de, pelo menos, 60°C e no meio fisiológico do referido mamífero, e sendo a cinética de dissolução da substância suporte no organismo do mamífero receptor mais lenta do que a cinética de libertação da substância activa nesse mesmo organismo, e em separar as referidas microesferas em fracções calibradas segundo os seus diâmetros, e graças à utilização destas fracções, ao fabrico de uma formulação destinada à administração parentérica por injeção.

Por estável no estado sólido, até 60°C, deve-se entender não apenas as microesferas que não fundem, mas também as que não amolecem e não aglutinam.

Por estável no estado sólido, no sentido do presente invento, não se deve também entender a estabilidade indefinida que apresentaria, por exemplo, uma microesfera de vidro, mas sim suficientemente estável para que a ordem de grandeza da duração da vida neste meio (verificando-se o desaparecimento das esferas por simples dissolução lenta ou por ataque químico metabólico) não seja inferior à duração de acção, desejada, do medicamento: por outras palavras, a cinética de dissolução da substância suporte no organismo do mamífero receptor, deve ser mais lenta do que a cinética de libertação da substância activa nesse mesmo organismo.

Se se utiliza um processo de pulverização-congelação para o fabrico das microesferas, a substância suporte deve ser quimicamente estável à sua temperatura de fusão, assim como no estado fundido, pelo menos num domínio de temperatura suficiente para esta operação.

A velocidade de dissolução de uma microesfera num dado meio solvente, é uma função do raio da esfera (tendo em conta as rela-

ções que ligam o volume, a superfície e raio de uma esfera). Segundo um aspecto do presente invento, o facto de utilizar esferas sólidas, não porosas, permite ter um conhecimento preciso da relação massa-superfície das partículas e, portanto, graças a uma selecção do calibre das esferas, isto é, do raio ou de uma repartição dos raios encontrar um parâmetro de controlo da taxa de libertação do ou dos princípios activos administrados.

A velocidade de dissolução dos princípios activos depende, igualmente, da estrutura da microesfera e, em particular, da acessibilidade do seu interior ao solvente. Uma substância inactiva, tendo por exemplo, a estrutura de um gel inchável em meio fisiológico (por exemplo uma fracção de colagénio) não provoca senão um ligeiro atraso na libertação de substâncias activas, enquanto que uma substância tendo uma estrutura hidrofóbica compacta fornece um efeito de retardamento máximo. Segundo um outro aspecto do presente invento, a selecção da molécula determinante e estruturante da microesfera, permite obter uma libertação retardada dos princípios activos, de algumas horas a várias semanas.

Se a substância farmacologicamente activa se encontra sob a forma de solução sólida na substância suporte ou de suspensão praticamente homogénea de partículas dispersas, pequenas (por ex. coloides) em relação ao diâmetro da microesfera (10-300  $\mu\text{m}$ ), a sua dissolução é frenada em função das concentrações respectivas. Se a substância activa se encontra sob a forma de partículas maiores, revestidas com uma camada exterior de uma substância hidrófoba, o início da dissolução é retardado. Por razões técnicas de fabrico, o tamanho das partículas revestidas é limitado em relação ao diâmetro das microesferas: no processo de pulverização/congelação, é preferível limitar o tamanho das partículas a 1/10 do das microesferas. O ajustamento destes diferentes parâmetros permite, segundo o invento, um controlo preciso da libertação dos princípios activos.

Esta mesma precisão de controlo, ao evitar as sobredosagens ou a necessidade de compensar as subdosagens, permite reduzir a quantidade total, prevista, de administração da ou das substâncias

as biologicamente activas a uma quantidade mínima, necessária para obter o efeito terapêutico desejado e diminuir assim o risco de produzir, no doente, efeitos secundários indesejáveis.

Uma dose injectável de 200 mg de microesferas, por ampola, contendo até 50 mg de princípio activo é considerada razoável.

Certas substâncias aditivas da associação podem não ser directamente activas no organismo receptor, pelo menos na aplicação visada, nem constituir a base da estrutura esférica. A associação pode compreender diversos meios farmacêuticamente aceitáveis para melhorar a estabilidade ou a integridade química das substâncias ou do conjunto da estrutura: surfactantes, anti-oxidantes, antimicrobianos, tampões, etc. Em particular, pode ser útil baixar o ponto de fusão ou inibir uma reacção de decomposição, durante o processo de fabrico (por ex. fusão-congelação) das microesferas.

Em relação às suspensões de princípios activos puros, sob a forma de partículas irregulares, conhecidas na arte anterior, as microesferas segundo o presente invento têm a vantagem de ter menos tendência para se aglutinar e de passarem de modo mais fluido por uma agulha hipodérmica. Por outro lado, as microesferas podem ser seleccionadas e separadas, de maneira mais rigorosa e mais fiável, em função do seu tamanho, do que as partículas de formas irregulares.

A forma galénica de acordo com o presente invento pode-se apresentar sob a forma de pó de microesferas em frascos-ampola, pronto a ser posto em suspensão, ou sob a forma de suspensão já preparada, embalada em ampolas injectáveis ou directamente em seringas, prontas a ser administradas em medicina humana ou veterinária. O meio de suspensão pode ser a água, uma solução salina, um óleo, contendo os tampões, surfactantes, conservantes habitualmente utilizados nas suspensões injectáveis pelos técnicos farmacêuticos, ou qualquer outra substância ou combinação que não ameace a integridade física e química das substâncias em suspensão, e que convenha ao organismo que a receberá. Se se pretender evitar uma elevação inicial brusca da taxa de princípio activo,

no meio interno do organismo receptor, preferir-se-á, no caso de suspensões prontas a ser empregues, a utilização de vectores líquidos, nos quais os ditos princípios activos são praticamente insolúveis. No caso de substâncias activas parcialmente solúveis no vector líquido morno, mas insolúveis a frio, preferir-se-á, no plano farmacológico, evitar a formação de precipitados (efeito dito de "caking") realizando formulações que apresentam separadamente as microesferas em po e o vector líquido, que não serão misturados senão no momento da injeção.

Nas aplicações veterinárias, em que a duração do efeito desejado pode ser muito longa (por exemplo o período de lactação da fêmea adulta), podem-se utilizar diâmetros de algumas centenas de micra. Se se pretender limitar o diâmetro das agulhas de seringas de injeção, para conforto do paciente, é conveniente limitar o diâmetro das microesferas a 300 micra e, mais preferivelmente, a 100 micra. Pelo contrário, para durações muito curtas do efeito desejado (por exemplo, circadianas), o diâmetro de uma microesfera pode ser baixado a 5 micra.

É preferível, para a maior parte das aplicações em medicina humana (duração do princípio activo compreendida entre um ciclo circadiano e um ciclo mensal), utilizar microesferas cujo diâmetro esteja compreendido entre 5 e 100 micra, consoante as combinações de substâncias activas/substâncias de suporte.

Pode-se realizar uma selecção das microesferas segundo o seu diâmetro, na altura do fabrico com a ajuda de processos conhecidos: por exemplo por separadores ciclónicos, por crivagem com sucção do ar ou, ainda, por crivagem em meio aquoso. Na prática, é suficiente que mais de 70% das microesferas tenham diâmetros compreendidos entre 70% e 130% de um diâmetro especificado. Se necessário, a curva de dissolução ideal, determinada pela aplicação pretendida, pode ser encontrada efectuando uma mistura de lotes possuindo diâmetros diferentes, adequados. Além disso, as particulas que não estão conformes às especificações podem ser recicladas.

Os processos para pôr um produto sólido sob a forma de microesferas, por abrasão mecânica, são conhecidos no estado da técnica. Outros processos utilizam, por exemplo, a colocação em suspensão do produto no estado fundido sob a forma de microgotas, sob agitação, num vector líquido com o qual o dito produto é não miscível, seguido da solidificação do dito produto. Para produzir as microesferas de acordo com o presente invento, preferiu-se desenvolver, um processo que consiste em pulverizar, sob pressão e/ou com o auxílio de gás quente, (eventualmente com vibrações) a substância suporte destinada a constituir as esferas, no estado fundido, na qual as substâncias farmacologicamente activas foram dispersas e se encontram, seja no estado dissolvido, seja sob a forma de partículas  $< 5 \mu\text{m}$ , e depois congelar rapidamente a névoa assim formada. É no entanto difícil fabricar microesferas, contendo partículas sólidas revestidas, com diâmetro  $< 2 \mu\text{m}$  por um processo de pulverização-congelamento.

As substâncias suporte, farmacodinamicamente inactivas, de acordo com o invento, cuja temperatura de fusão é superior a cerca de  $70^{\circ}$  e que são, ou podem ser tornadas, termoestáveis acima do seu ponto de fusão para poderem ser submetidas ao processo de fabrico, permitem produzir microesferas estáveis (sem amolecimento ou aglutinação) a temperaturas ambientes baixas ou médias.

No entanto, na medida em que o princípio activo em suspensão, suporta temperaturas elevadas sem decomposição é preferível, para evitar um risco de alteração das microesferas aquando de uma elevação accidental importante da temperatura (transporte, armazenamento), escolher uma substância suporte cuja temperatura de fusão seja superior a  $90^{\circ}\text{C}$ , para constituir a estrutura da microesfera.

De entre as substâncias suporte preferidas, citaremos como substâncias inactivas podendo constituir a estrutura das microesferas:

1-Coprosterol, cujo ponto de fusão é de  $101^{\circ}\text{C}$ , produto obtido pela metabolização dos esteróis e que participa na formação dos esteróides e dos ácidos biliares.

2-Acido glicocólico, cujo ponto de fusão é de 130°C, que faz parte dos sais biliares.

3-Colesterol, cujo ponto de fusão é de 148°C-149°C, principal esterol nos mamíferos, presente em quase todos os tecidos do organismo humano, e seus ésteres.

é à primeira vista surpreendente, injectar colesterol em suspensão de partículas esféricas num ser humano, tendo em mente o papel que se lhe atribui em certas doenças cardiovasculares. Mas em relação às 5-10 g naturalmente presentes no estado livre no meio fisiológico, os 50-200 mg de uma injeção são uma quantidade baixa. Além disso, a sua relativa inércia metabólica permite considerá-lo como farmacodinamicamente inactivo nestas doses. Por outro lado, as suas propriedades físicas fazem dele uma excelente substância suporte dentro do quadro do presente invento.

As substâncias farmacologicamente activas que convêm, particularmente, a este sistema galénico são as que 1) são solúveis (ou reactivas) em fluidos biológicos, 2) que, mesmo possuindo tendência para decompor a temperaturas muito elevadas, próximas ou superiores ao seu ponto de fusão, permanecem física e quimicamente estáveis no ponto de fusão da substância inactiva que serve de estrutura.

Um exemplo é a metoclopramida, um antiemético francamente solúvel em água.

Um outro exemplo é a morfina base, um analgésico narcótico, cujo ponto de fusão é a 254-256°C e que se torna física e quimicamente instável próximo de 200°C. A morfina (partículas da ordem de 1 µm a 5 µm, ou mais pequenas) é dispersa em colesterol líquido (TF=148°C) sem risco de decomposição. A mistura é pulverizada e congelada em microesferas. Sob esta forma, a morfina pode, por exemplo, ser administrada à razão de uma injeção diária, em meio hospitalar, de 50 mg de morfina contidas em 200 mg de microesferas/âmpola (dose muitíssimo variável devido às reacções individuais à morfina); para um paciente em ambulatório, prefere-se adap-

tar a apresentação (dose e estrutura das esferas) para uma injeção todos os 2-3 dias, e mesmo semanal.

Entre as substâncias activas demasiado solúveis em meio fisiológico para poderem ser administradas no estado livre, apresentando um efeito retardado, e suficientemente estáveis ao calor para poderem ser incorporadas no colesterol, citaremos nomeadamente:

a) substâncias que actuam sobre o sistema nervoso central (tranquilizantes como o LORAZEPAM, o HALOPERIDOL, os antiparkinsonianos, como o BIPERIDEN, o TRI-HEXIFENIDIL HCL, anti-convulsivantes, como o CLONAZEPAM, narcóticos, como a MORFINA BASE),

b) sobre o sistema neurovegetativo (antieméticos, como a METOCLOPRAMIDA, o MALEATO de ACEPROMAZINE, gastrocinéticos, como a DOMPERIDONA),

c) vasodilatadores, periféricos, como a VINCAMINA, a NILIDRINA HCL, a FLUNARIZINA, o PIZOTIFENO, a DI-HIDROERGOTAMINA, ou brônquicos, como o BROMO-HIDRATO, o FENOTEROL, o TOLBUTEROL, o CLENBUTEROL, o SALBUTAMOL,

d) anti-histamínicos (ASTEMIZOLE, MALEATO de CLORFENAMINA, AZATADINA),

e) antagonista dos receptores  $H_2$ , a FAMOTIDINA,

f) vários esteroides (DEXAMETASONA, BETAMETASONA) são, igualmente, convenientes.

A dissolução de certos analgésicos, por si pouco solúveis, como a indometacina ou o naproxeno, pode ser vantajosamente frenada por incorporação numa estrutura de colesterol (o que permite espaçar as injeções, aumentando as doses unitárias).

O presente invento será melhor compreendido com o auxílio das figuras e dos exemplos que o ilustram. Não está, contudo, limitado a estas formas de execução.

#### BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A figura 1 mostra o esquema de fabrico de microesferas de colesterol de acordo com o presente invento.



A figura 2 mostra uma microfotografia (microscópio electrónico) de microesferas de colesterol.

A figura 3 mostra a repartição granulométrica de uma fracção de microesferas de colesterol (diâmetro médio de 15  $\mu$ m).

A figura 4 mostra a repartição granulométrica de uma fracção de microesferas de colesterol (diâmetro médio de 25  $\mu$ m).

A figura 5 representa uma montagem experimental para determinar a velocidade de dissolução das microesferas.

As figuras 6 e 7 mostram o perfil de dissolução de microesferas (fig.6) de 17- $\beta$ -estradiol, suportado por colesterol, comparado com o perfil de dissolução de cristais de 17- $\beta$ -estradiol (fig.7).

As figuras 8 e 9 mostram o perfil de dissolução de microesfera de diazepam, suportado por colesterol, comparado com o perfil de dissolução de cristais de diazepam.

A figura 10 mostra os níveis plasmáticos de diazepam obtidos (no coelho) por injeção, respectivamente, de uma solução (curva 0) de cristais, em suspensão (curva 1) e de microesferas de diazepam/colesterol (curva 2).

As figuras 11, 12, 13 mostram os níveis plasmáticos de 17- $\beta$ -estradiol, obtidos (no coelho) por injeção, respectivamente, de uma solução (curva 0) de cristais, em suspensão (curva 1) e de microesferas de 17- $\beta$ -estradiol/colesterol (curva 2).

#### Exemplo 1: fabrico de microesferas de colesterol.

Fazemos referência à figura 1. O azoto pré-aquecido sob pressão é enviado pelo tubo de entrada  $A_1$  para dentro do dispositivo pulverizador e atravessa uma zona de aquecimento B termo-regulada onde é levado a uma temperatura compreendida entre 160 e 190°C, antes de ser admitido no pulverizador D. O pulverizador D

está ligado, por uma tubagem a um recinto C aquecido no qual o colesterol é mantido no estado fundido ( $T=150^{\circ}\text{C}$ ) e sob pressão de azoto (entrada  $A_2$ ). É arrastado pela corrente de azoto e misturado com esta, para ser pulverizado em névoa pelo bico de saída do pulverizador D e penetra na câmara de pulverização-congelação F. Um reservatório E contém o azoto líquido que se evapora e penetra, por várias canalizações, sob a forma de gás ultra-frio, a grande velocidade, na câmara de pulverização-congelação F, onde encontra a névoa de colesterol. As gotículas, logo após a sua formação pelo pulverizador, são rodeadas por uma corrente de gás glacial que as cristaliza em microesferas e as impede de tocar nas paredes antes da sua solidificação total. A temperatura à saída da câmara de pulverização-congelação está compreendida entre  $-15^{\circ}\text{C}$  e  $-50^{\circ}\text{C}$ . A totalidade das microesferas, produzidas com a ajuda desta câmara F, tem uma forma esférica perfeita. À saída da câmara F encontram-se dois separadores ciclónicos,  $G_1$ ,  $G_2$ , conhecidos, montados em série. As microesferas são recuperadas em recipientes colectores  $H_1$  e  $H_2$ ; os gases à saída dos ciclones, atravessam um filtro descontaminador I, no qual se mantém uma ligeira depressão em relação à pressão reinante no primeiro ciclone, com a ajuda de uma bomba. A figura 2 mostra uma fracção de microesferas de colesterol recuperadas, em microfotografia (pelo microscópio electrónico).

#### Exemplo 2: Repartição granulométrica.

As microesferas de colesterol, fabricadas nas condições operatórias anteriores são separadas em fracções.

As figuras 3 e 4 mostram as distribuições granulométricas de fracções centradas, respectivamente, em  $15\text{ }\mu\text{m}$  e  $25\text{ }\mu\text{m}$ .

#### Exemplo 3: Fabrico de microesferas de 17- $\beta$ -estradiol/colesterol.

Utiliza-se o procedimento do exemplo 1 com uma mistura de 17- $\beta$ -estradiol/colesterol numa relação ponderal 1/9. Condições operatórias:

Fusão:  $149^{\circ}\text{C}$  em atmosfera de azoto.

Aspersão: por válvula, com pressão de ar de 19,6 kPa (200 g/cm<sup>2</sup>)

Congelação: por ar a -20°C, sob pressão de 392 kPa (4 kg/cm<sup>2</sup>)

Recuperação: por ciclones

Seleção: em meio aquoso e por crivagem segundo a granulometria.

Exemplo 4: Fabrico de microesferas de diazepam/colesterol.

Utiliza-se o procedimento do exemplo 1 com uma mistura de diazepam/colesterol numa relação ponderal 1/2 . Condições operatórias:

Fusão: 138°C em atmosfera de azoto.

Aspersão: por válvula, com pressão de ar de 9,8 kPa (100 g/cm<sup>2</sup>)

Congelação: por ar a -20°C, sob pressão de 392 kPa (4 kg/cm<sup>2</sup>)

Recuperação: por ciclones

Seleção: em meio aquoso e por crivagem segundo a granulometria.

Exemplo 5: Fabrico de microesferas de cafeína/colesterol.

Utiliza-se o procedimento do exemplo 1 com uma mistura de cafeína/colesterol numa relação ponderal 20:80. Condições operatórias:

Fusão: 165°C em atmosfera de azoto.

Aspersão: por válvula, com pressão de ar de 13,7 kPa (140 g/cm<sup>2</sup>)

Congelação: por ar a -20°C, sob pressão de 392 kPa (4 kg/cm<sup>2</sup>)

Recuperação: por ciclones

Seleção: em meio aquoso e por crivagem segundo a granulometria.

ANÁLISES COMPARATIVAS ESPECTROFOTOMÉTRICAS DE UV E IV ANTES E APOS A FORMAÇÃO DAS MICROESFERAS

É necessário verificar que não interveio nenhuma degradação química das substâncias no decurso do processo de fusão-congelamento, que possa modificar a sua acção terapêutica. A comparação faz-se entre a matéria prima (cristais) e as microesferas obtidas por fusão-congelamento, por análises espectrofotométricas em UV e IV. Os gráficos "antes e depois" devem ser sempre sobreponíveis em UV e geralmente em IV. Quando surgem diferenças nas curvas de infra-vermelhos, convém verificar se não foram provocadas por um



fenômeno de polimorfismo, recorrendo à cromatografia líquida de elevada resolução com montagem de díodos. Convém, igualmente, recorrer à termografia, não só para limitar bem os pontos de fusão, mas também para determinar se surgem endotermias ou exotermias, que também podem exprimir modificações estruturais ou um polimorfismo, susceptíveis de ter um efeito no processo de formação das microesferas, para além das degradações químicas produzidas pelo aquecimento.

Aparelho utilizado em espectrografia em ultra-violeta: Hewlett Packard, modelo 8452A com montagem de fotodíodos, com célula de quartzo possuindo um feixe de 0,1 cm.

Solventes: etanol para o 17-beta-estradiol e o colesterol; HCL a 0,1 N para o diazepam.

Os resultados não mostram vestígios de alteração.

Aparelho utilizado em espectrofotometria de infra-vermelhos: Nicolet 205 FT-IR. Meio de dispersão: brometo de potássio.

Cromatógrafo: líquido de alta resolução com montagem de díodos: marca: WATERS, com fotodíodos (array detector) mod. Waters 990 e N.E.C. Powermate 2 workstation.

Termógrafo: SHIMADZU DSC-50 Calormeter e CR4A workstation.

Os resultados não mostram nenhuma alteração após a colocação sob a forma de microesferas do 17-beta-estradiol e do diazepam.

Na figura 5 mostra-se a montagem experimental para efectuar os testes de dissolução in vitro. Uma célula de perfusão 1, contendo a amostra, é alimentada por um reservatório (sob agitação) de meio de dissolução 2; ambos estão contidos num banho-maria 3. A densidade óptica do meio, é registada por um espectrofotometro 4 e o meio é reconduzido ao reservatório. Um colectador de esferas 5 e uma bomba peristáltica 6 completam o circuito. Os exemplos



seguintes mostram a reprodutibilidade comparada das partes iniciais das curvas de dissolução de cristais e microesferas de granulometria comparável, de um mesmo produto. O aparelho utilizado é o da figura 5. Vários (3-6) circuitos de medida (células de dissolução e tubagens) contendo amostras idênticas, são postos a funcionar em paralelo pela mesma bomba peristáltica e medidos simultaneamente.

Exemplo 5: Dissolução de microesferas de 17-beta-estradiol/colesterol (1/9):

O aparelho utilizado é o da fig. nº.5

Meio de dissolução utilizado: H<sub>2</sub>O qualidade HPLC com 0,01 % de Tween 80

Amostra: 50 mg

Granulometria: 50 a 100 micra

Intervalos de amostragem: 0, 3, 6, 9, 21, 24 horas

Comprimento das ondas de espectrofotometria: 282 nm

As curvas de dissolução são mostradas nas figuras 6 (microesferas) e 7 (cristais).

Exemplo 6: Dissolução de microesferas de diazepam/colesterol (1/2):

O aparelho utilizado é o da fig. nº.5

Meio de dissolução utilizado: H<sub>2</sub>O qualidade HPLC com 0,01 % de Tween 80

Amostra: 50 mg

Granulometria: 50 a 100 micra

Intervalos de amostragem: 0, 1, 2, 4, 8 horas

Comprimento das ondas de espectrofotometria: 286 nm

As curvas de dissolução são mostradas nas figuras 8 (microesferas) e 9 (cristais).

Exemplo 7: FORMULAÇÕESFórmula Nº.1

Microesferas de 17-beta-estradiol/colesterol*	25	mg
Polietileno-glicol 800	20	mg
Carboximetilcelulose sódica	1,66	mg
Polisorbato 80	2,0	mg
Propilparabeno	0,14	mg
NaCl	1,2	mg
H <sub>2</sub> O q.b.p.	1	ml

\*equivalentes a 2,5 mg de 17-beta-estradiol

Fórmula Nº.2

Microesferas de diazepam/colesterol a 33%*	33,3	mg
Polietileno-glicol 4000	3,0	mg
NaCl	8,5	mg
Álcool benzílico	9,0	mg
Hidróxido de sódio ou HCL:	suf. para pH 5-6	
H <sub>2</sub> O q.b.p.	1	ml

\*equivalentes a 10 mg de diazepam

Exemplo 8: ESTUDO DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE 17-BETA-ESTRADIOL/  
COLESTEROL NO COELHO.

O estudo compreende a avaliação comparada do efeito produzido pela administração parentérica de estradiol, sob forma de uma solução oleosa (fig.11), de uma suspensão aquosa de partículas de estradiol (fig.12) e de uma suspensão aquosa de microesferas (fig.13) de estradiol/colesterol (fórmula nº.1), sobre os níveis plasmáticos no coelho.

A 10 coelhos machos da raça Nova Zelândia, com um peso médio de 3,5 kg, administra-se uma dose única, intramuscular, de 5 mg de estradiol.

O intervalo de amostragem é de 1, 2, 4 e 24 horas, durante 20 dias, e em seguida a cada três dias até atingir 30 dias.



As colheitas são de 2 ml por venopunção, são centrifugadas e depois guardadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até à análise por análise radio-imunológica.

Exemplo 9: EVOLUÇÃO COMPARATIVA DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE DIAZEPAM EM SOLUÇÃO OLEOSA, EM SUSPENSÃO DE CRISTAIS E EM SUSPENSÃO DE MICROESFERAS.

Sujeitos de experimentação: coelhos da raça Nova Zelândia com idade de cerca de 5 meses e pesando, em média, 3,7 kg.

A colheita de referência é de 5 ml de sangue por punção cardíaca, seguida de administração intramuscular de 2 ml da fórmula a testar no membro inferior direito (fórmula n.º.2). Os cristais que serviram de comparação são constituídos por uma mistura 1:2, fundida, recongelada e triturada, de diazepam/colesterol.

As colheitas a analisar foram retiradas com intervalos de 30 min. durante 2 horas e com intervalos de 60 min. até completar 6 horas. Em vários ensaios, em função das características cinéticas do medicamento, podem-se fazer colheitas adicionais.

As colheitas a analisar, de 2 ml, igualmente retiradas por punção cardíaca, foram colocadas num Vacutainer, adicionando-lhes heparina, centrifugadas a 3000 rpm durante 10 min. e em seguida separando-se o plasma e congelando-se em criotubos a  $-20^{\circ}\text{C}$  até ao momento da sua análise.

Condições cromatográficas:

Detecção UV a 220 nm

Coluna Novapack  $\text{C}_{18}$  de 10 micra

Fase móvel: tampão fosfato pH 3,5/acetonitrilo

59:41 v/v

Caudal: 1,6 ml/min

Padrão interno: ibuprofeno

A figura 10 mostra a evolução dos níveis plasmáticos até 30 horas após a injeção, obtidos respectivamente por injeção de

uma solução oleosa (curva 0), de uma suspensão de microesferas segundo a fórmula nº.2 do exemplo 8 (curva 2) e de uma suspensão equivalente de cristais (curva 1). Constata-se que a utilização de microesferas elimina o pico plasmático inicial.

Em resumo, o conjunto dos resultados anteriores mostra que na fase inicial de dissolução as substâncias farmacologicamente activas apresentam valores numéricos mais reprodutíveis e um perfil de dissolução mais regular quando estão sob a forma de uma amostra de microesferas calibradas do que quando sob a forma de partículas de formas irregulares. Isto permite calcular de forma mais precisa uma dose farmacologicamente eficaz. Além disto, o desaparecimento, ou pelo menos a forte diminuição, do pico inicial de dissolução (em relação a quaisquer cristais ou partículas), assim como a frenagem e o prolongamento global do fenómeno de dissolução permite calcular as doses unitárias maiores destinadas a serem administradas com intervalos de tempo mais espaçados.

Por outro lado, os resultados anteriores mostram que a utilização deste tipo de estrutura convém tanto para o fabrico de medicamentos cuja duração de acção é relativamente curta, de algumas horas a alguns dias (p. ex. analgésicos) como para as substâncias cuja duração de acção pretendida é de várias semanas. Entre estas últimas pode-se citar em particular a utilização de hormonas sexuais (como a progesterona e o 17- $\beta$ -estradiol) para o fabrico de anticonceptivos destinados a injeção mensal ou de anticonceptivos destinados mais particularmente à mulher no post-partum, ou ainda no fabrico de medicamentos com longa duração de acção, injectáveis, destinados à prevenção da osteoporose na mulher em menopausa.

O processo de fabrico anteriormente descrito, as estruturas esféricas e as formulações obtidas e sua utilização por via parentérica por injeção, não estão, evidentemente, limitadas às substâncias dadas nos exemplos anteriores, mas são aplicáveis a todas as substâncias farmacologicamente activas, quimicamente estáveis durante a micronização, com a condição de as modificações farmacocinéticas que possibilitam as microesferas (duração curta ou longa segundo o diâmetro, regularização dos perfis plasmáti-

72 720


3.L331.12 PT.4

BIIII/MD(JS)

-21-



cos) apresentarem uma vantagem terapêutica ou de comodidade e que as doses a administrar não ultrapassem um volume razoável. Pode-se escolher o modo de administração de entre a injeção hipodérmica, a injeção subcutânea, a injeção intramuscular, a injeção intra-articular e a injeção intratecal, de acordo com a aplicação pretendida.

REIVINDICAÇÕES

1 - Processo de tratamento farmaco-técnico de uma substância farmacêuticamente activa, injectável, que permite um melhor controlo sobre as suas propriedades farmacocinéticas e farmacológicas, sendo a referida substância farmacêuticamente activa susceptível de ser administrada por injeção parentérica a um mamífero, caracterizado por compreender a microesferonização da referida substância, de modo a obter-se microesferas sólidas, não porosas, com um diâmetro compreendido entre 5 e 300 micra que contêm a referida substância farmacêuticamente activa numa estrutura esférica formada por, pelo menos, uma substância suporte farmacologicamente inactiva, estando a referida substância suporte, que forma a estrutura esférica, naturalmente presente no organismo do referido mamífero, e sendo estável no estado sólido até uma temperatura de pelo menos 60°C e no meio fisiológico receptor do dito mamífero, sendo a cinética de dissolução da substância suporte no organismo do mamífero receptor mais lenta do que a cinética de libertação da substância activa nesse mesmo organismo, e a separação das referidas microesferas em fracções calibradas segundo os seus diâmetros.

2 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a separação em fracções ser efectuada de maneira que mais de 70% das referidas microesferas tenham diâmetros compreendidos entre 70% e 130% de um diâmetro especificado.

3 - Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por compreender os passos seguintes:

- a) a dispersão da substância activa na substância suporte e fusão da substância suporte sob atmosfera inerte;
- b) pulverização da matéria fundida em névoa de gotículas, sob pressão de atmosfera inerte;
- c) congelação em atmosfera fria;
- d) separação em fracções granulométricas.

4 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o diâmetro da referida microesfera estar compreendido entre



10 e 100  $\mu$ m.

5 - Processo de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por compreender ainda a adição de aditivos farmacologicamente aceitáveis.

6 - Processo de acordo com a reivindicação 3, caracterizado por a substância suporte ser escolhida de entre o coprosterol, o ácido glicocólico, o colesterol e os ésteres de colesterol.

7 - Processo de acordo com as reivindicações anteriores, caracterizado por a substância suporte ser o colesterol.

8 - Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por a substância farmacologicamente activa ser escolhida de entre as substâncias que actuam sobre o sistema nervoso central como os tranquilizantes, nomeadamente o lorazepam, o haloperidol, e o diazepam, como os antiparkinsonianos, nomeadamente o biperiden, o tri-hexilfenidil HCl, como os anticonvulsivantes, nomeadamente o clonazepam, e como os narcóticos, nomeadamente a morfina base e os derivados da morfina.

9 - Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por a substância farmacologicamente activa ser escolhida de entre as substâncias que actuam sobre o sistema neurovegetativo, como os antieméticos, nomeadamente a metaclopramida, o maleato de acepromazina e como os gastrocinéticos, nomeadamente a domperidona.

10 - Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por a substância farmacologicamente activa ser escolhida de entre os vasodiladores periféricos, nomeadamente a vincamina, a nilidrina, a flunarizina, o pizotifeno, a di-hidroergotamina, e brônquicos, nomeadamente o bromo-hidrato, o fenoterol, o tolbuterol, clenbuterol e o salbutamol.

11 - Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por a substância farmacologicamente activa ser escolhida de entre os anti-histamínicos, nomeadamente o astemizole, o maleato de

clorfenamina, a azatadina, e de entre os antagonistas dos receptores  $H_2$ , nomeadamente a famotidina.

12 - Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por a substância farmacologicamente activa ser escolhida de entre os esteróides, nomeadamente a desametasona, a betametasona e o 17- $\beta$ -estradiol.

13 - Processo de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por a substância farmacologicamente activa ser escolhida de entre os analgésicos, nomeadamente a indometacina e o naproxeno.

14 - Processo de preparação de uma formulação destinada a administração parentérica por injeção, caracterizado por se associarem microesferas calibradas, de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 13, com um vector líquido farmacologicamente aceitável.

15 - Processo de acordo com a reivindicação 14, caracterizado por as referidas microesferas serem suspensas num vector líquido farmacologicamente aceitável escolhido de entre as soluções aquosas, nomeadamente uma solução salina, e os óleos.

16 - Processo de acordo com a reivindicação 14, caracterizado por as referidas microesferas serem suspensas num vector líquido farmacologicamente aceitável no qual as referidas substâncias activas são substancialmente insolúveis.

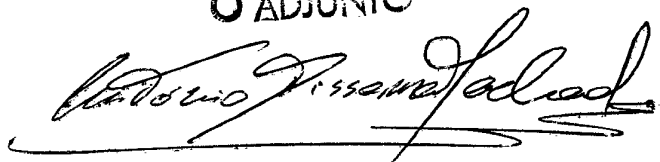
17 - Processo de acordo com a reivindicação 14, de preparação de um anticonceptivo destinado a injeção parentérica mensal, caracterizado por compreender a associação de microesferas calibradas de 17- $\beta$ -estradiol contidas numa estrutura de colesterol, com um vector líquido farmacologicamente aceitável.

Lisboa, 14. JUN. 1991

Por APLICACIONES FARMACEUTICAS S.A. DE C.V.

=O AGENTE OFICIAL=

○ ADJUNTO



*[Handwritten signature]*

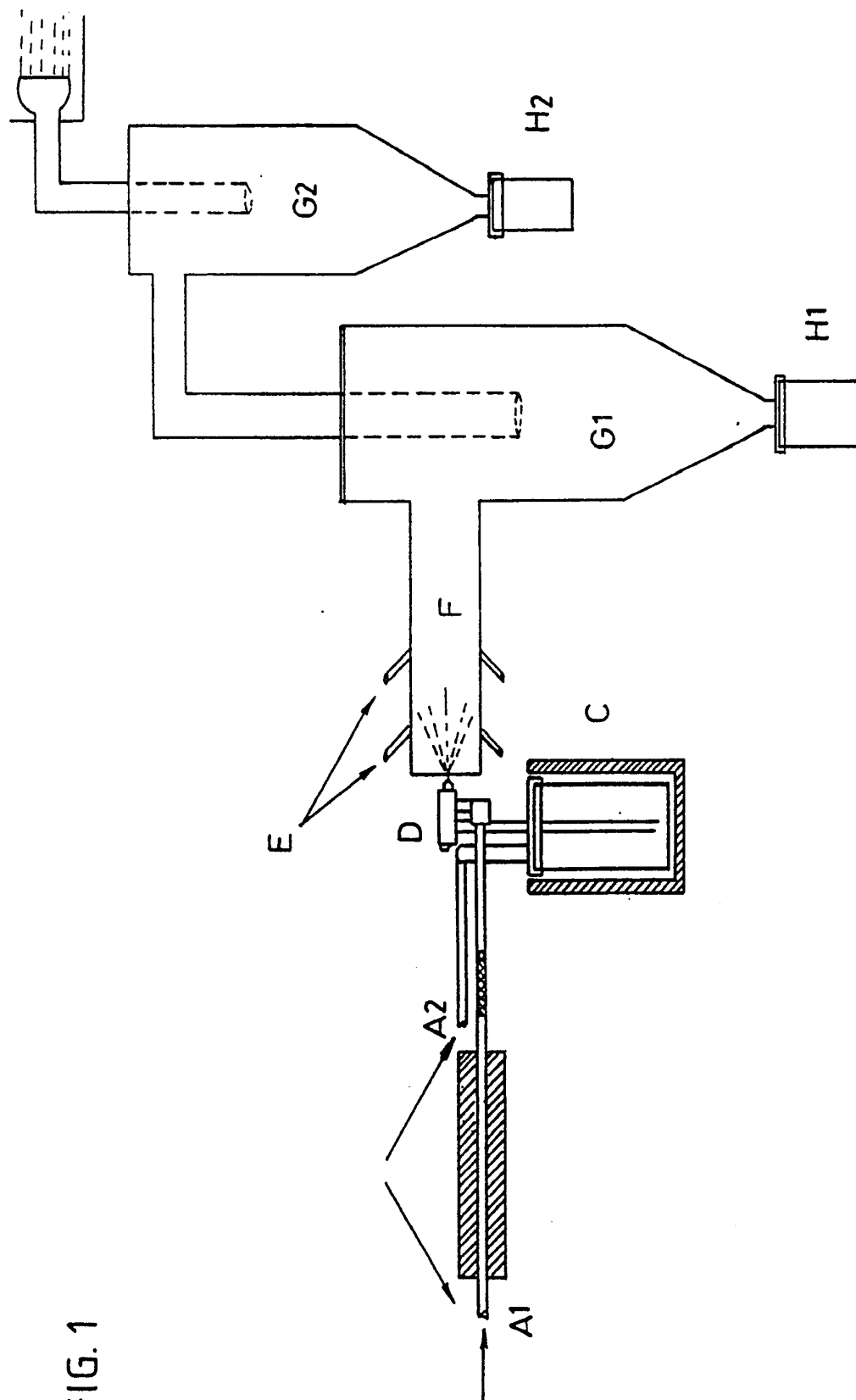


FIG. 1

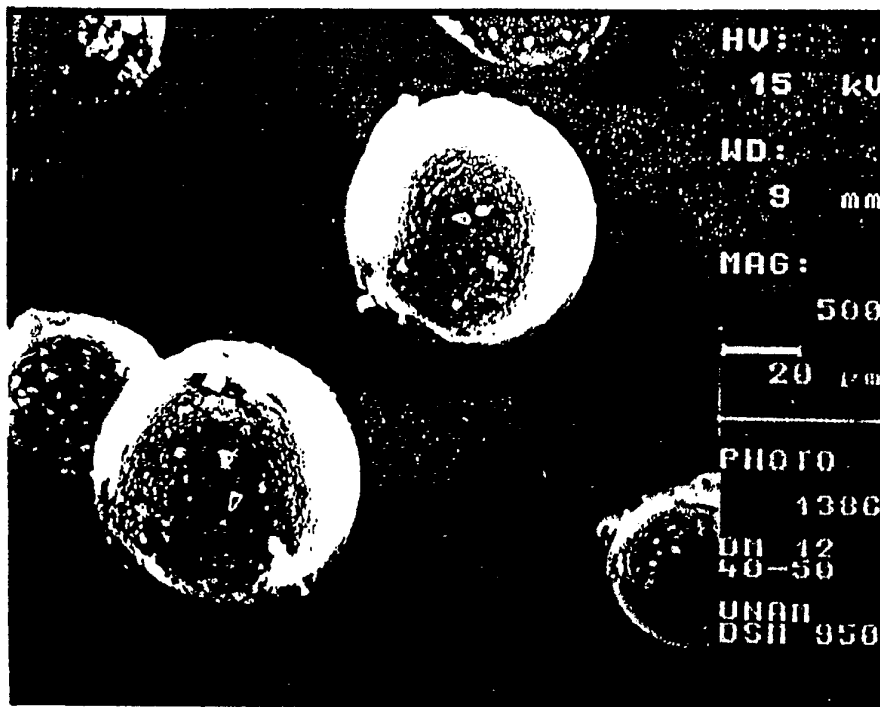
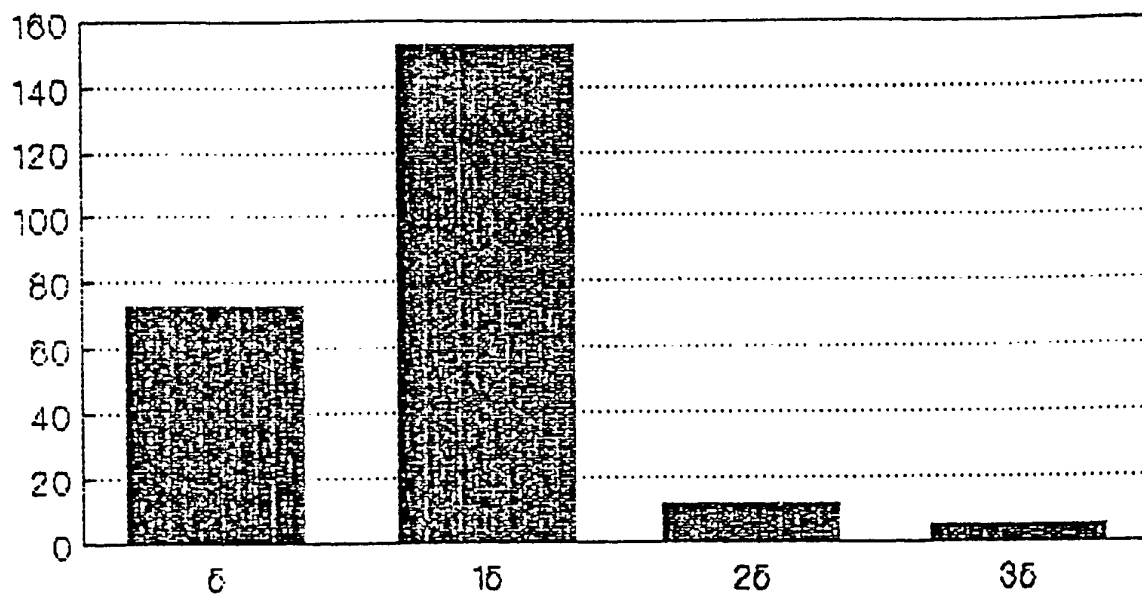


FIG.2

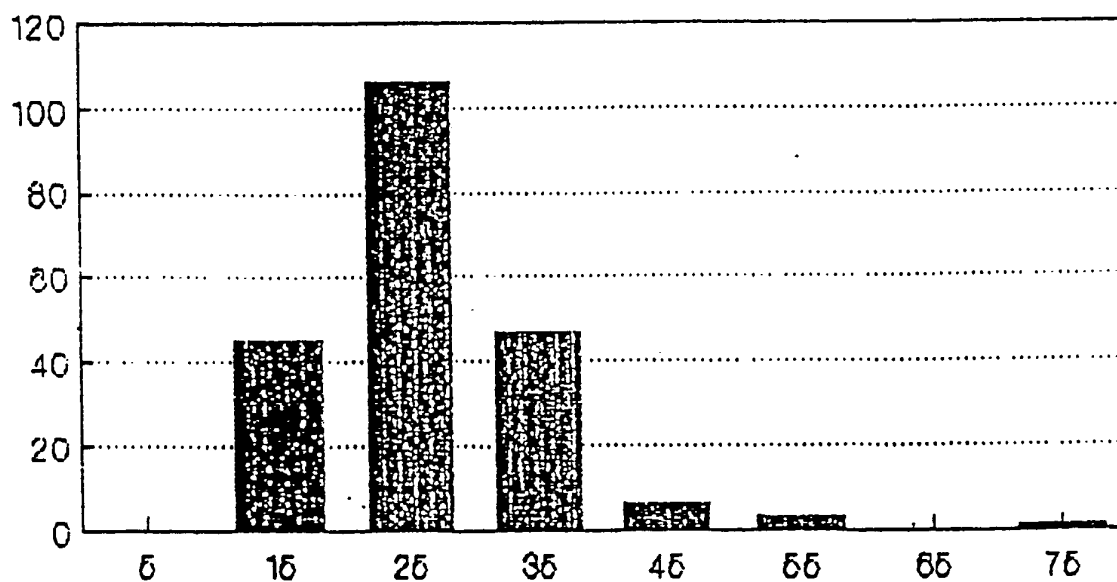
3/8

FIG. 3



DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA

FIG. 4



DISTRIBUIÇÃO GRANULOMÉTRICA

~~SECRET~~

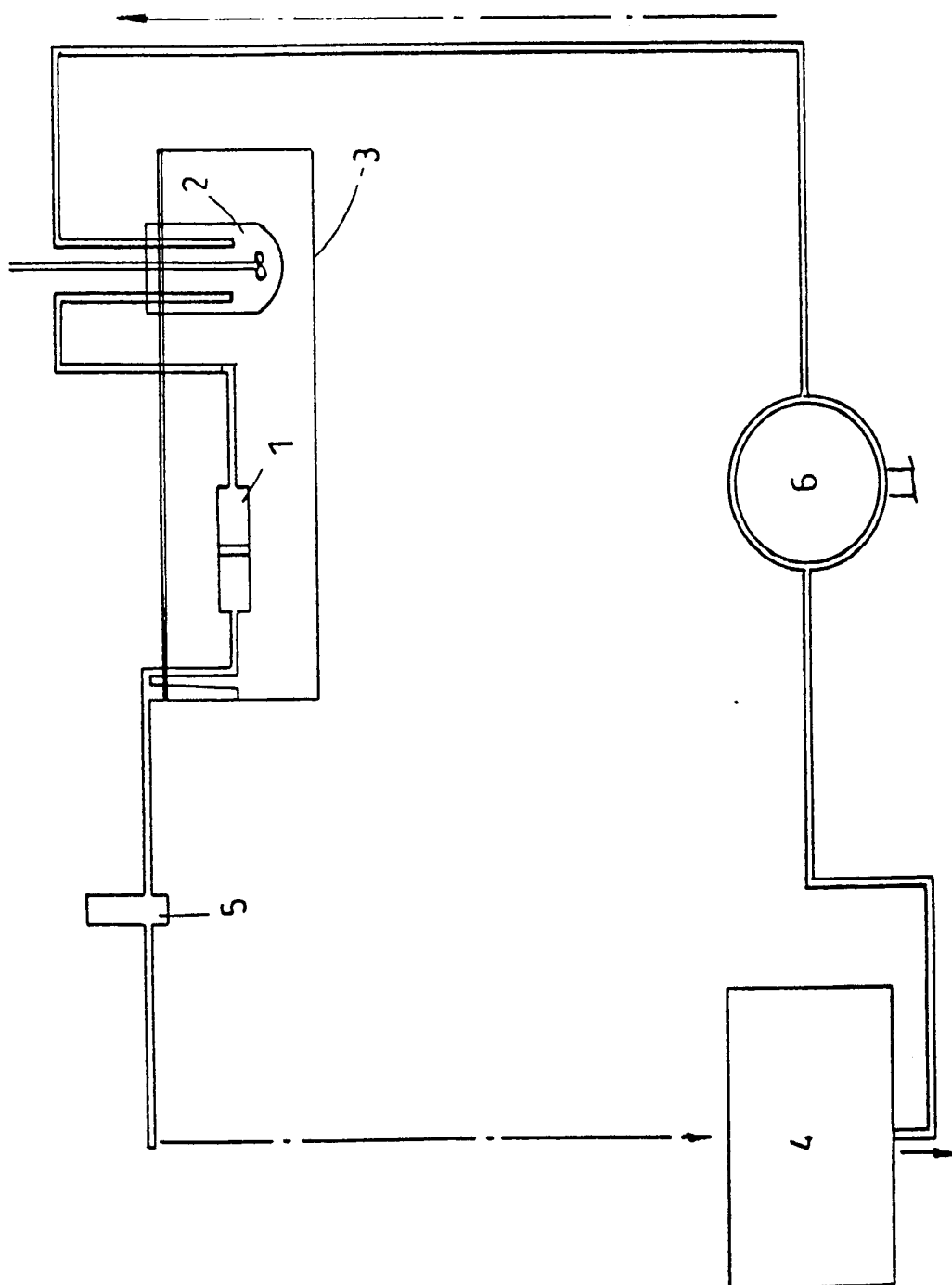


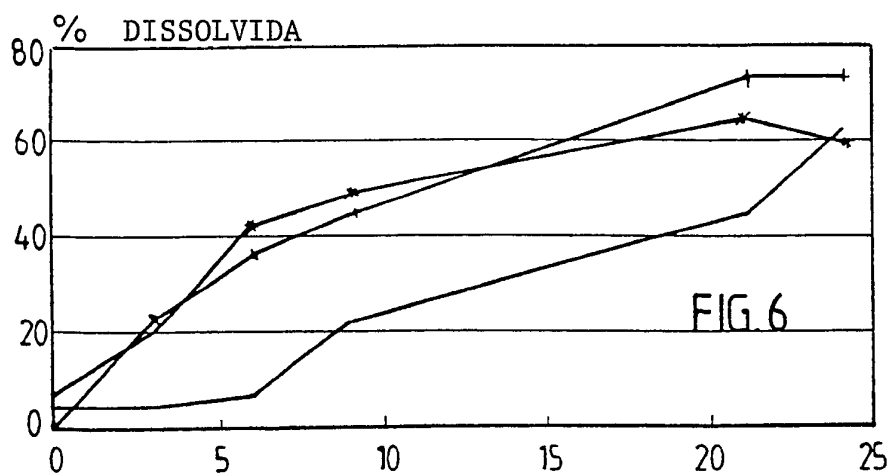
FIG. 5

5/8

*[Handwritten signature]*

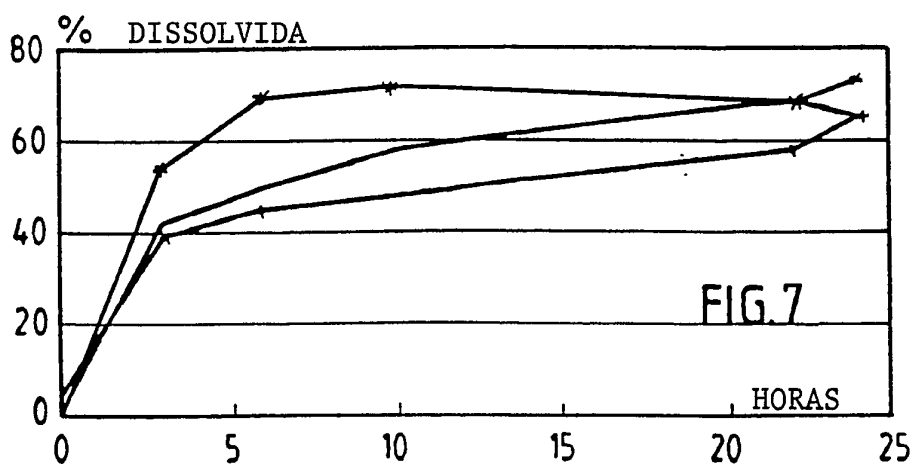
# DISSOLUÇÃO DE MICROESFERES

17- $\beta$ -ESTRADIOL-COLESTEROL (10:90)



# DISSOLUÇÃO DE MATÉRIA MICRONIZADA

17- $\beta$ -ESTRADIOL-COLESTEROL (10:90)

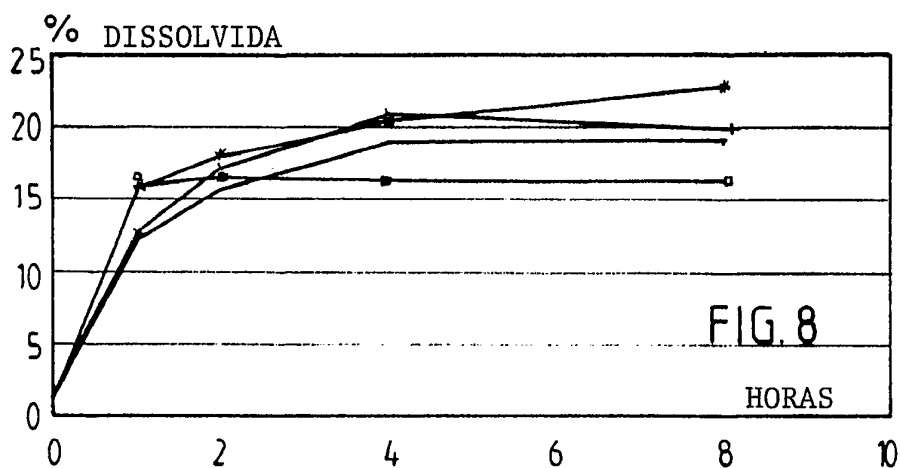


6/8

*[Handwritten signature]*

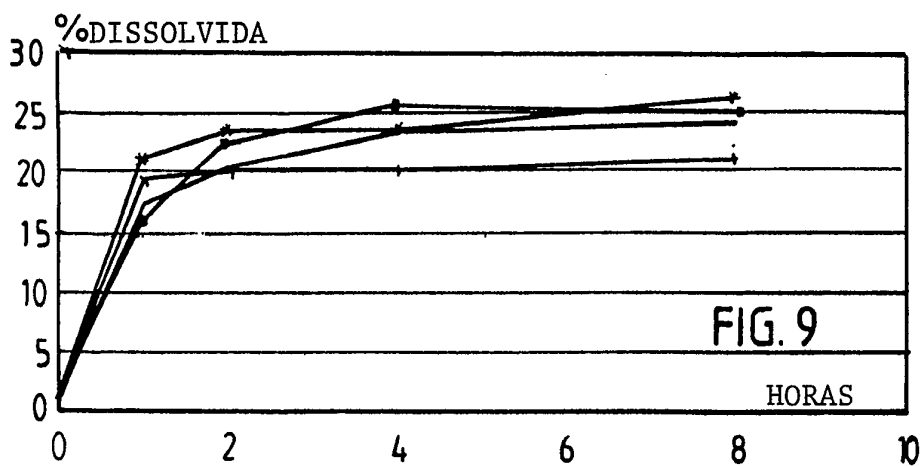
# PERFIL DE DISSOLUÇÃO

DE DIAZEPAM/COLESTEROL (1:2), MICROESFERAS



# PERFIL DE DISSOLUÇÃO

DE DIAZEPAM, CRISTAIS

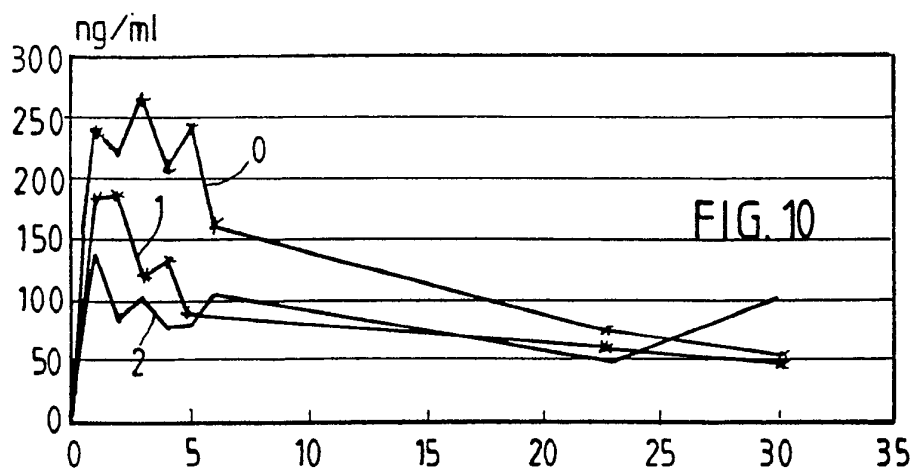


7/8

*[Handwritten signature]*

# NIVEIS PLASMÁTICOS DE DIAZEPAM

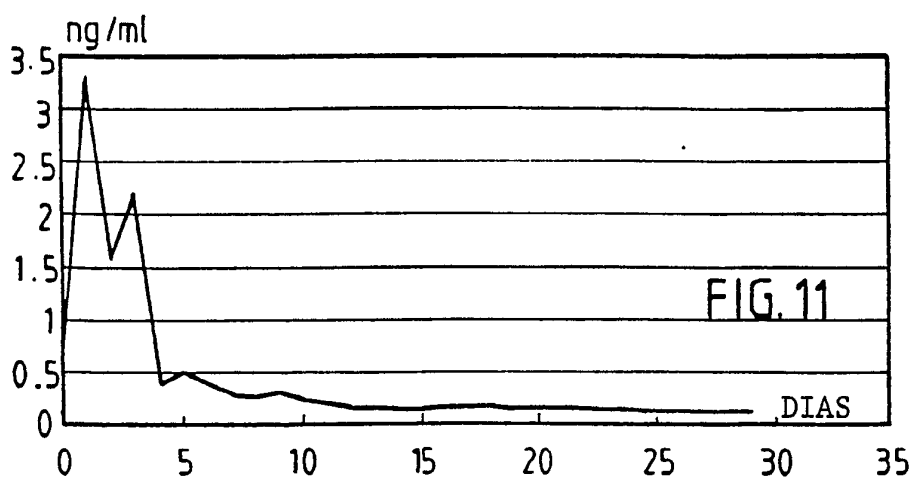
NO COELHO, APÓS INFECÇÃO



0: SOL. OLEOSA      1: CRISTAIS      2: MICROESFERAS

## NIVEIS PLASMÁTICOS DE ESTRADIOL

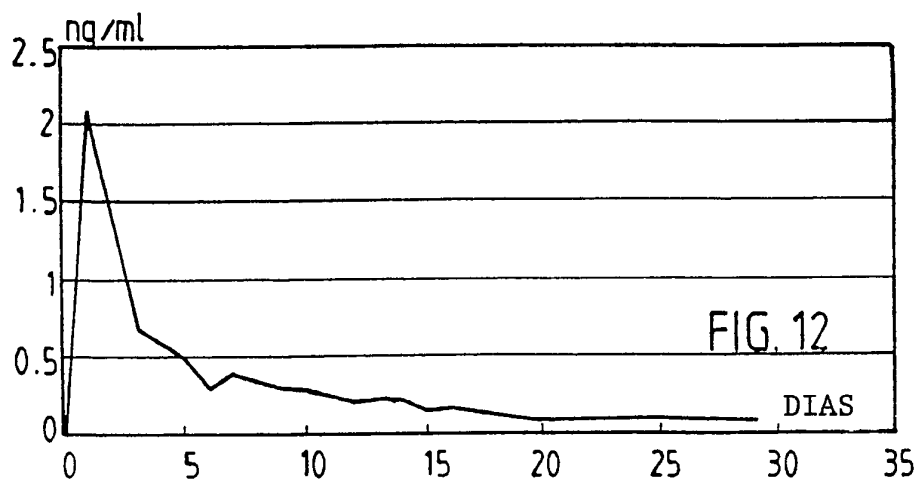
NO COELHO



SOLUÇÃO OLEOSA

## NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ESTRADIOL/COLESTEROL

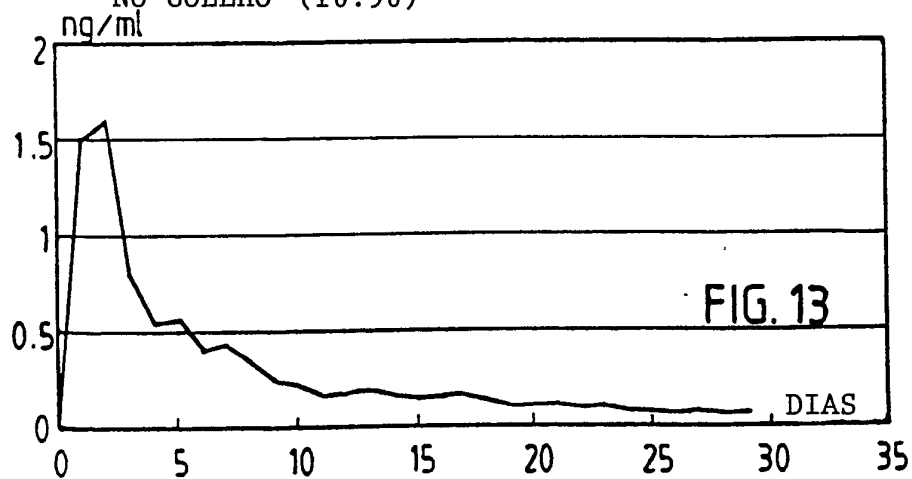
NO COELHO (10:90)



## MATÉRIA MICRONIZADA

## NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ESTRADIOL/COLESTEROL

NO COELHO (10:90)



MICROESFERAS