

MEMÓRIA DESCRITIVA
DA
PATENTE DE INVENÇÃO
Nº 94 848

NOME: IdB HOLDING SpA

EPÍGRAFE: "Processo de produção de preparações farmacêuticas tópicas à base de antocianidinas"

INVENTORES: Maria Jose Magistretti, Marisa Conti e Giorgio Pifferi

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

Reino Unido em 28 de Julho de 1989 sob o nº 8917323.1

71 234

Ref: SDR/gv/15735



PATENTE Nº 94 848

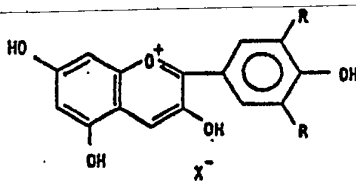
"Processo de produção de preparações farmacêuticas tópicas à base de antocianidinas"

para que

IdB HOLDING SpA, pretende obter privilégio de invenção em Portugal.

R E S U M O

O presente invento refere-se ao processo de produção de uma preparação farmacêutica tópica, adaptada para administração local ao olho de um sujeito, para reduzir a hiperpermeabilidade dos vasos oculares do corpo ciliar caracterizado por compreender a mistura de uma antocianidina de fórmula (I) ou (II)



na qual (I) cada R representa hidrogénio, ou

(II) cada R representa hidroxí, e

X⁻ representa um equivalente de um anião farmacêuticamente aceitável, com um diluente oftalmologicamente aceitável.

MEMÓRIA DESCRITIVA

Este invento refere-se a processos e a composições farmacêuticas para o tratamento de doenças oftalmológicas e especificamente ao uso de antocianidinas seleccionadas, para produzir um efeito farmacológico oftalmológico específico.

As antocianidinas são conhecidas como tendo propriedades farmacológicas de valor no tratamento de doenças vasculares periféricas. Assim as Patentes Britânicas Nºs 1 589 294 e 1 595 531, descrevem e reivindicam antocianidinas possuindo actividade cicatrizante, regeneradora do epitélio, anti-inflamatória, vaso-protectora, hipolipémica, hipocolesterolémica e hipoglicémica. Devido à sua baixa toxicidade, estes compostos são particularmente úteis para o tratamento prolongado de doentes com circulação periférica deficiente.

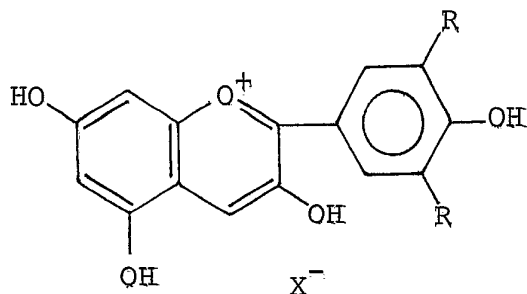
Os glicósidos das antocianidinas (anto-cianósidos), que existem como misturas em extractos de certos frutos, foram descritos como tendo actividade na melhoria da função visual, particularmente da visão nocturna (Patente Francesa Nº 1369 M, de 25 de Junho de 1962, Chibret). Estes compostos aceleram, aparentemente, a regeneração da rodopsina facilitando, assim, a adaptação à escuridão.

Verificou-se agora que duas das antocianidinas descritas na GB 1 589 294, nomeadamente a pelargonidina e a delfidina, possuem uma nova e inesperada actividade no campo da oftalmologia, especificamente por serem activos na redução da permeabilidade dos vasos do corpo ciliar.

Estes vasos sanguíneos diferem na sua estrutura anatómica, dos outros vasos sanguíneos oculares e dos vasos sanguíneos da circulação geral, e estão envolvidos na regulação da pressão endo-ocular e da barreira sangue-água, e na produção de humor aquoso.

Esta actividade de redução da permeabilidade de vasos do corpo ciliar recentemente descoberta não poderia ser prevista a partir das propriedades conhecidas das antocianinas e dos antocianósidos.

A estrutura da pelargonidina e da delfidina é seguinte:

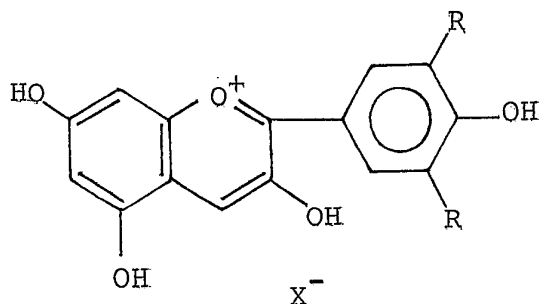


na qual na pelargonidina (Composto I), cada R representa hidrogênio

na delfinidina (Composto II), cada R representa hidroxí, e X^- é um anião farmacêuticamente aceitável, p.e. Cl^- .

A nova actividade oftalmológica destes compostos foi estabelecida através de diversas experiências in vivo em modelos animais.

Assim, de acordo com um aspecto do presente invento, proporciona-se um processo para reduzir a hiperpermeabilidade dos vasos do corpo ciliar ocular num indivíduo, o qual compreende administrar a um indivíduo uma dose eficaz de uma antocianidina de fórmula



na qual (I) cada R representa hidrogênio, ou

(II) cada R representa hidroxí, e

X^- é um anião farmacêuticamente aceitável, p.e. Cl^- .

O processo do invento tem particular utilidade na redução da hiperpermeabilidade dos vasos do corpo ciliar ocular induzida por lesão ou por agentes nocivos.

O invento proporciona ainda o uso de uma antocianidina de fórmula (I) e (II) acima, na manufactura de composições farmacêuticas para efectuar os processos de tratamento referidos.

Podem-se usar diversas vias de administração para efectuar o processo do invento. Por exemplo, as antocianidinas podem ser administradas oralmente ou podem ser administradas localmente no olho.

Os efeitos farmacológicos específicos obtidos de acordo com o invento, serão agora descritos mais detalhadamente.

A. EFEITO SOBRE A PERMEABILIDADE DA BARREIRA HEMATO-OFTÁLMICA

Mediu-se o efeito sobre a permeabilidade da barreira hemato-oftálmica induzindo um aumento na permeabilidade dos vasos do corpo ciliar, quer por paracentese, quer por instilação de hidróxido de sódio no saco conjuntival. Mediu-se então a redução na permeabilidade induzida pela administração oral dos produtos a testar.

1. Método de Paracentese

(i) Administração Aguda

A experiência foi efectuada em 80 coelhos albinos da Nova Zelândia, com um peso corporal médio de 2,8 kg, divididos em oito grupos de dez animais.

A permeabilidade dos vasos foi medida pelo processo de coloração: injectou-se 1 ml de azul de Evans, a uma concentração de 0,5% na veia marginal do ouvido.

Após 10 minutos, o olho esquerdo foi submetido a paracentese e 12 minutos depois colheu-se uma amostra de humor aquoso. A quantidade de azul de Evans na amostra de humor aquoso foi usada para avaliar a permeabilidade da barreira hemato-oftálmica. Imediatamente depois, os compostos I e II foram administrados em doses de 100 ou 200 mg/kg através de sonda gástrica.

Duas ou quatro horas após a administração, efectuou-se paracentese no olho direito, e 12 minutos depois colheu-se uma amostra de humor aquoso.

A quantidade de azul de Evans no humor aquoso foi avaliada por espectrofotometria, dando uma leitura a 623 nm.

(ii) Administração Repetida

A experiência foi efectuada em 20 coelhos da Nova Zelândia,

com um peso corporal médio de 2,5 kg, usando a mesma técnica experimental que para a administração aguda.

As substâncias foram administradas em doses de 100 mg/kg per os/dia durante 7 dias, e o efeito sobre a permeabilidade da barreira foi medido no oitavo dia, 24 horas após a última administração.

O Quadro 1 dá os resultados obtidos com os compostos I e II, administrados numa só dose de 100 ou 200 mg/kg. A quantidade de corante vindo dos vasos do corpo ciliar, duas ou quatro horas após a administração, estava reduzida de uma forma estatisticamente significativa. Quando as substâncias foram administradas repetidamente, a sua eficácia aumentou. A inibição da quantidade de corante emergente, subiu 15% a 21-22%, e era ainda estatisticamente significativa 24 horas após a última administração.

QUADRO 1

Efeito sobre a Permeabilidade da barreira hemato-oftálmica induzida por
paracetense no coelho

Substância	Dose mg/kg per os	Nº de Admi- nistrações	Nº de Animais	Azul de Evans (µg/ml de humor aquoso) m ± d.p.			
				Tempo 0	2 horas	4 horas	24 horas
Composto I	100	1	10	41,2±10,6	34,9±8,5 ^{**} (-15,4%)		
	100	1	10	55,5±20,6		46,9±17,5 ^{**} (-15,5%)	
	200	1	10	50,5±17,9	42,2±15,0 ^{**} (-16,4%)		
	200	1	10	53,1±23,7		44,8±20,2 ^{**} (-15,6%)	
	100	7	10	56,9±14,8			44,2±11,7 ^{**} (-22,4%)
Composto II	100	1	10	48,3±7,2	41,5±7,9 ^{**} (-14,1%)		
	100	1	10	53,6±12,3		45,6±9,7 ^{**} (-14,9%)	
	200	1	10	53,1±12,2	45,1±10,3 ^{**} (-15,1%)		
	200	1	10	54,1±11,5		45,9±12,2 ^{**} (-15,1%)	
	100	7	10	53,7±12,8			42,5±13,3 ^{**} (-20,8%)

Os parentesis dão as variações de percentagem em relação ao tempo 0

** p < 0,01 "t" de Student para pares de dados

2. Método do Hidróxido de Sódio

A experiência foi efectuada em 50 coelhos da Nova Zelândia, com um peso corporal médio de 2,2 kg. A substância foi administrada uma vez por dia, durante 7 dias, em doses de 50 ou 100 mg/kg. Um grupo de controlo foi tratado com água da torneira.

Trinta minutos após a última administração, administrou-se 1 ml de uma solução a 0,5% de Azul de Evans na veia marginal do ouvido. 30 minutos depois, produziu-se inflamação no tecido ocular, instilando duas gotas de hidróxido de sódio 0,25 N no saco conjuntival. Duas horas depois o animal foi anestesiado, e colheu-se uma amostra de humor aquoso, de forma a medir a proporção de corante.

Como se mostra no Quadro 2, ambos os compostos II e I induziram uma redução dependente da dose, sobre a permeabilidade dos vasos do corpo ciliar provocada pelo agente irritante. A redução, após a administração de 100 mg/kg, era estatisticamente significativa, em comparação com os controlos.

QUADRO 2

Efeitos dos compostos I e II sobre a permeabilidade da barreira hemato-oftálmica induzida por NaOH no coelho

Substância	Nº de Animais	Dose mg/kg/dia per os	Azul de Evans µg/ml m [±] d.p.	Variação de Percentagem
Controlos	10	-	5,9 [±] 0,6	
Composto II	10	50	5,1 [±] 0,7	-14
	10	100	3,2 [±] 0,4*	-45
Composto I	10	50	5,8 [±] 0,8	- 2
	10	100	3,5 [±] 0,6*	-40

*p < 0,05 de acordo com o teste "t" de Student

3. Método da Lente Corneana

A experiência foi efectuada em 40 coelhos da Nova Zelândia, com um peso corporal médio de 2,5 kg, divididos em quatro grupos de 10 animais.

Mediu-se a permeabilidade dos vasos pelo método de coloração: injectou-se 1 ml de Azul de Evans, numa concentração de 0,5%, na veia marginal do ouvido. Após 10 minutos, aplicou-se uma lente corneana mole, embebida numa solução a 2% de hidrocloreto de histamina no olho esquerdo, durante 30 minutos.

O olho esquerdo foi submetido a paracentese e retirou-se uma amostra de humor aquoso.

Imediatamente depois, as substâncias foram administradas por alimentação forçada à dose de 10 mg/kg. Duas ou quatro horas após a administração, aplicou-se uma lente embebida em histamina, como acima descrito, durante 30 minutos no olho direito. Efectuou-se paracentese e retirou-se o humor aquoso.

A quantidade de Azul de Evans no humor aquoso foi avaliada como descrito em 1(i).

Como se mostra no Quadro 3, ambos os compostos I e II reduziram a permeabilidade dos vasos do corpo ciliar, provocada pela histamina. Os efeitos após 2 e 4 horas foram estatisticamente significantes em comparação com valores basais.

QUADRO 3

Efeito sobre a permeabilidade da barreira hemato-oftálmica
induzida pela histamina

Substância	dose mg/kg. per os	Nº de Animais	Azul de Evans ($\mu\text{g/ml}$ de humor aquoso) m^{\pm}dp		
			Tempo 0	2 horas	4 horas
Composto II	100	10	$110,9 \pm 32,7$	$82,0 \pm 7,0^{***}$ (-25,3)	
	100	10	$100,6 \pm 38,9$		$68,8 \pm 8,7^{***}$ (-31,7)
Composto I	100	10	$106,4 \pm 29,5$	$86,2 \pm 6,1^{**}$ (-19,0)	
	100	10	$108,2 \pm 16,4$		$75,9 \pm 10,3^{***}$ (-29,9)

*** $P < 0,001$

** $P < 0,01$ "t" de Student para pares de dados

Entre parentesis as variações de percentagem em relação ao tempo 0.

B. TOXICIDADE AGUDA

Esta foi testada em ratinhos e ratazanas após administração por sonda gástrica. Doses até 6 g/kg dos compostos I e II não provocaram sintomas tóxicos ou morte. A LD₅₀ deve ser, portanto, superior a 6 g/kg.

C. TOLERÂNCIA OCULAR

A tolerância ocular dos compostos I e II foi medida em coelhos da Nova Zelândia no segmento anterior (conjuntiva, córnea, íris e cristalino) e no segmento posterior (humor vítreo e retina) após administração oral, aplicação local e injeção intra-ocular.

1. Administração oral

Ambos os produtos foram administrados por sondas gástricas, quer numa só dose de 200 mg/kg quer em doses repetidas de 100 mg/kg

durante 7 dias. Fizeram-se vigilâncias antes e 1, 2 e 4 horas após a administração aguda, no terceiro e sétimo dias, após a administração repetida e 5 dias após a suspensão do tratamento.

2. Aplicação local

As substâncias foram instiladas no saco conjuntival numa quantidade de 0,5 ml por dia, em suspensões aquosas a 1%, durante 30 dias.

3. Injecção intra-ocular

As substâncias foram injectadas, sob anestesia, na câmara anterior a uma concentração de 0,1%, após evacuação da câmara. As estruturas oculares foram examinadas por uma lâmpada de fenda 1, 24 e 48 horas após a injecção.

A administração oral, única ou repetida, dos compostos I e II não induziu modificações na conjuntiva, córnea, íris, cristalino, humor vítreo ou retina.

A aplicação local foi também perfeitamente tolerada.

Após injecção intracâmara observou-se uma coloração azul das estruturas intracâmaras, juntamente com hiperémia da conjuntiva, e uma reacção inflamatória a qual, na maior parte dos casos, desapareceu em 48 horas.

A intensidade das reacções foi semelhante para ambos os produtos.

Com base nos resultados dos testes para a actividade farmacológica e clínica, os compostos I e II podem ser usados no tratamento de situações de aumento da permeabilidade capilar após um estímulo nocivo, resultando na abertura de junções intercelulares, quebra da barreira aquosa sanguínea e extravazamento de proteínas séricas para a câmara anterior.

Tais situações de fragilidade capilar são complicações frequentes da diabetes. Portanto, uma acção directa dos compostos I e II sobre a permeabilidade dos vasos, pode melhorar as afecções oftalmológicas nos doentes diabéticos.

Podem-se usar diversas vias de administração para efectuar o

processo do invento. Por exemplo, as antocianidinas podem ser administradas oralmente ou podem ser administradas localmente no olho.

Os produtos, de acordo com o processo do invento, podem ser usados em formas farmacêuticas orais, tais como comprimidos, cápsulas e saquetas de granulado.

Os exemplos seguintes ilustram o invento, sem serem limitativos.

EXEMPLO 1 (Composto I, 100 mg, cápsulas)

Cada cápsula, tamanho 2, contém:

Composto I	100 mg
Lactose	138 mg
Metilcelulose	4 mg
Carboximetilcelulose de sódio	4 mg
Estearato de Magnésio	2 mg
Talco	2 mg

EXEMPLO 2 (Composto II, 300 mg, cápsulas)

Cada cápsula, tamanho 1, contém:

Composto II	300 mg
Metilcelulose	6 mg
Carboximetilcelulose de sódio	6 mg
Talco	3 mg
Estearato de magnésio	3 mg

EXEMPLO 3 (Composto II, 100 mg, comprimidos)

Cada comprimido de 160 mg contém:

Composto II	100 mg
Metilcelulose	2 mg
Carboximetilcelulose de sódio	10 mg
Celulose microgranular	30 mg
Lactose	12 mg
Talco	3 mg
Estearato de Magnésio	3 mg

EXEMPLO 4 (Composto I, 300 mg, comprimidos)

Cada comprimido de 500 mg contém:

Composto I	300 mg
Metilcelulose	6 mg
Celulose Microgranular	100 mg
Lactose	70 mg
Carboximetilcelulose de sódio	18 mg
Estearato de magnésio	3 mg
Talco	3 mg

EXEMPLO 5 (Composto I, 100 mg, saquetas de granulado)

Cada saqueta de 1 g contém:

Composto I	100 mg
Manitol	400 mg
Glicirrizinato de amônio	10 mg
Pó aromatizante	10 mg
Metilcelulose	5 mg
Lactose	475 mg

EXEMPLO 6 (Composto II, 300 mg, saquetas de granulado)

Cada saqueta de 1 g contém:

Composto II	300 mg
Manitol	300 mg
Glicirrizinato de amônio	10 mg
Pó aromatizante	10 mg
Metilcelulose	5 mg
Lactose	375 mg

71 234

Ref: SDR/gv/15735

-13-



EXEMPLO 7 (Composto II, 100 mg de colírio liofilizado)

Cada ampola de "liofilizado" contém

Composto II	100 mg
Manitol	300 mg

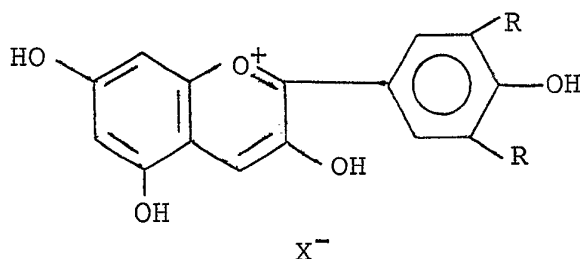
Cada ampola de "Solvente" contém

Hidroxipropilmetilcelulose	40 mg
Cloreto de benzalcônio	1 mg
Fosfato monobásico de sódio	82,8 mg
Fosfato dibásico de sódio	23,9 mg
Água para injeção q.b. para	10 ml

94868

R E I V I N D I C A Ç Õ E S

1 - Processo de produção de uma preparação farmacêutica tópic_a, adaptada para administração local ao olho de um sujeito, para reduzir a hiperpermeabilidade dos vasos oculares do corpo ciliar, caracterizado por compreender a mistura de uma antocianidina de fórmula (I) ou (II)



na qual (I) cada R representa hidrogénio, ou

(II) cada R representa hidroxí, e

X^- representa um equivalente de um anião farmacêuticamente aceitável, com um diluente oftalmologicamente aceitável, estando a referida antocianidina presente com uma concentração de, pelo menos, 0,1 %.

2 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a composição estar na forma de gotas, de unguento ou de colírio oftálmicos.

Lisboa, 27. JUL. 1990

Por IdB HOLDING SpA

- O AGENTE OFICIAL -