

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: 2005.03.29	(73) Titular(es): PIERRE FABRE MEDICAMENT 45, PLACE ABEL GANCE 92100 BOULOGNE- BILLANCOURT FR
(30) Prioridade(s): 2004.04.01 FR 0403450 2004.10.21 FR 0411201	
(43) Data de publicação do pedido: 2010.12.15	(72) Inventor(es): BERNARD FREISS FR FLORENCE MARCIACQ FR HUBERT LOCHARD FR
(45) Data e BPI da concessão: 2013.05.15 145/2013	(74) Mandatário: LUÍS MANUEL DE ALMADA DA SILVA CARVALHO RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **COMPLEXOS DE INCLUSÃO OBTIDOS UTILIZANDO UM PROCESSO COM CO2 SUPERCRÍTICO E UM AGENTE PARA INTERAÇÃO COM O COMPLEXO**

(57) Resumo:

O PRESENTE INVENTO REFERE-SE A UM COMPLEXO COMPREENDENDO PIROXICAMO, UMA CICLODEXTRINA E ARGININA, CARACTERIZADO POR A TAXA DE SOLUBILIZAÇÃO DO PIROXICAMO CONTIDO NUMA SOLUÇÃO A 4 G/L EM ÁGUA, MEDIDA A 37°C DEPOIS DE ENTRE 5 E 120 MINUTOS DE AGITAÇÃO, É SUPERIOR A 90%, VANTAJOSAMENTE SUPERIOR A 95%, DE MANEIRA VANTAJOSA IGUAL A 99%.

RESUMO

"COMPLEXOS DE INCLUSÃO OBTIDOS UTILIZANDO UM PROCESSO COM CO₂ SUPERCRÍTICO E UM AGENTE PARA INTERAÇÃO COM O COMPLEXO"

O presente invento refere-se a um complexo compreendendo piroxicamo, uma ciclodextrina e arginina, caracterizado por a taxa de solubilização do piroxicamo contido numa solução a 4 g/l em água, medida a 37°C depois de entre 5 e 120 minutos de agitação, é superior a 90%, vantajosamente superior a 95%, de maneira vantajosa igual a 99%.

DESCRIÇÃO**"COMPLEXOS DE INCLUSÃO OBTIDOS UTILIZANDO UM PROCESSO COM CO₂ SUPERCRÍTICO E UM AGENTE PARA INTERAÇÃO COM O COMPLEXO"**

O presente invento refere-se a um processo de preparação de compostos de inclusão solúveis através da tecnologia de fluidos densos sob pressão, em particular a do CO₂.

Numerosas substâncias ativas, nomeadamente de interesse no domínio farmacêutico, apresentam uma muito baixa solubilidade ou são insolúveis em água e, consequentemente, em líquidos biológicos. Isto implica uma baixa biodisponibilidade destas substâncias ativas e um forte aumento das doses administradas aos doentes para atingir o objetivo terapêutico fixado e assim um crescimento dos possíveis efeitos secundários ligados aos tratamentos médicos.

As propriedades farmacocinéticas de uma dada substância dependem, entre outras, da afinidade da sua superfície de contacto em relação ao solvente considerado, a saber a água no caso do domínio farmacêutico. O aumento da superfície específica dos pós permite melhorar a sua velocidade de dissolução. Ou a biodisponibilidade de princípios ativos pode ser consideravelmente aumentado se a

sua velocidade de dissolução for melhorada. Também, a formação de complexos moleculares compostos por uma ou várias substâncias ativas e de uma ou várias moléculas hospedeiras judiciosamente escolhida(s) pela sua forte solubilidade nos líquidos biológicos pode assim permitir aumentar a dissolução da ou das substâncias ativas nos líquidos biológicos.

No domínio farmacêutico existe um certo número de patentes e publicações relativas à formação de complexos à base de ciclodextrina, na presença de um agente de interação com o complexo. No entanto, a maior parte dos documentos não propõe processos industriais, mas sobretudo o estudo da melhoria da solubilidade de um complexo substância ativa/ciclodextrina por intermédio do agente de interação com o complexo. Trata-se, com efeito, de uma enumeração de agentes de interação com o complexo testados para um mesmo princípio ativo e os resultados analíticos observados. Por outro lado, existem poucos documentos propondo uma complexação em meio supercrítico.

Os documentos que descrevem os processos de complexação com uma ciclodextrina pelo fluido supercrítico são os seguintes:

Com o fim de fixar moléculas voláteis por inclusão, Kamihira M. et al (J. of Fermentation and Bioengineering, Vol. 69, N°6, 350-353, 1990) descreve um processo de extração de compostos aromáticos voláteis e de retenção

por inclusão em ciclodextrinas. O geraniol e o óleo de mostarda são assim extraídos através de um fluido sob pressão e depois vaporizados em modo dinâmico num segundo reator contendo as ciclodextrinas. A influência dos diferentes parâmetros é estudada por medida da taxa de inclusão dos compostos aromáticos nas ciclodextrinas. Todavia, a etapa da inclusão é realizada em modo dinâmico e não estático. Por outro lado, a aplicação reivindicada pelos autores é outra pois trata-se da fixação de moléculas voláteis por inclusão. Finalmente, este processo não é realizado com fluidos supercríticos, mas com gás sob pressão.

Van Hees et al. (Pharmaceutical Research, Vol. 16, N° 12, 1999) descreve na sua publicação um processo de inclusão de Piroxicamo comercial em β -ciclodextrinas através de CO₂ supercrítico. Sendo o Piroxicamo um anti-inflamatório não esteróide pouco solúvel em água, a sua inclusão nas β -ciclodextrinas deve permitir aumentar a sua solubilidade em água. O processo consiste em colocar uma mistura de Piroxicamo e de β -ciclodextrinas (razão molar de 1/2,5) num autoclave pressurizado, deixado em modo estático. Após despressurização a mistura obtida é moída e homogeneizada. O complexo é em seguida seco antes de caracterização por:

- DSC (Calorimetria de Exploração Diferencial)
- Técnica da solubilidade diferencial
- Métodos espectroscópicos.

Estas análises permitem concluir quanto à taxa de complexação do Piroxicamo com a β -ciclodextrina. Não é mencionada a importância de um agente de interação com o complexo na dissolução do complexo assim obtido. Por outro lado, nenhum agente de difusão é utilizado na etapa de formação do complexo com CO₂ supercrítico em modo estático.

O pedido de patente WO 03/043604 descreve um processo de preparação do complexo molecular da substância ativa em moléculas hospedeiras. O processo tem uma etapa de difusão molecular por colocação em contacto em modo estático de um fluido denso sob pressão na presença eventual de um agente de difusão; a água.

Todavia, esta etapa é seguida por uma etapa obrigatória de lavagem com CO₂ supercrítico. Além disso nenhum agente de interação com o complexo é utilizado.

Diferentes documentos fazem parte da melhoria da solubilidade de uma substância ativa por adição de um agente de interação com o complexo (Redenti, E. et al., J. of Pharmaceutical Sciences, Vol. 89, 1-8, 2000). A solubilidade da substância ativa só, da substância ativa na presença de um agente de interação com o complexo, do complexo binário substância ativa/ciclodextrina e, finalmente, do complexo ternário substância ativa/ciclodextrina/agente de interação com o complexo são estudadas. No entanto, nenhum dos processos descritos utiliza CO₂

supercrítico, nem em particular uma etapa de difusão molecular em modo estático utilizando um agente de difusão.

Assim, Buvári-Barcza et al. (J. of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, Vol. 42, 209-212, 2002) estudaram a solubilidade dos complexos ácido benzóico/ β -ciclodextrina e benzeno/ β -ciclodextrina na presença de ácido acético. A solubilidade do complexo benzeno/ β -ciclodextrina é independente da concentração em ácido acético enquanto que a do complexo ácido benzóico/ β -ciclodextrina cresce com a concentração em ácido acético. A interpretação dos autores é a seguinte: no complexo ternário molécula/ β -ciclodextrina/ácido acético, as ligações de hidrogénio potenciais entre a molécula e a cavidade interior da ciclodextrina são promotoras de outras interações no exterior da ciclodextrina.

Do mesmo modo, Mura et al. (J. of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, Vol. 39, 131-138, 2001) mediram a solubilidade do econazole na presença de ciclodextrinas (α -, β -, γ -, hidroxipropil- β -ciclodextrinas) e hidroxiácidos (ácidos tartárico, cítrico, glucónico, málico e láctico). Os complexos ternários são preparados por mistura física ou moagem dos 3 compostos, co-evaporação ou liofilização de uma solução contendo os 3 compostos. A formação do complexo ternário é seguido por DSC. Só a liofilização permite obter um perfil DSC não apresentando o pico de fusão do econazole.

Os autores concluem com o efeito sinérgico observado no complexo ternário, pois as solubilidades observadas são até 20 vezes mais elevadas que as do complexo binário econazole/ciclodextrina.

Os mesmos autores (Int. J. of Pharmaceutics, Vol.260, 293-302, 2003) estudaram igualmente os complexos ternários do tipo naproxeno/hidroxipropil- β -ciclodextrina/aminoácido. Os complexos citados são preparados seja por co-moagem seja por co-evaporação de uma solução água/etanol contendo os 3 compostos.

Piel et al., (J. of Pharmaceutical Sciences, Vol. 86-4, 475-480, 1997) apresentam um estudo de solubilidade de um complexo nimesulide/L-Lisina/ β - ou γ -ciclodextrina obtido por secagem por pulverização ou por evaporação. A solubilidade do complexo ternário é, segundo o pH da solução, até 3600 vezes mais importante que só o nimesulide. Os autores falam ainda de um efeito sinérgico da ciclodextrina e da L-Lisina.

Fenivesy et al. (Proceedings of the 7th international cyclodextrins symposium, 414-418, 1994) interessaram-se pela complexação das substâncias ativas terfenadina, domperidona e astemizole com a hidroxipropil- β -ciclodextrina na presença de hidroxiácidos.

Duas patentes (EP 0 991 407 e EP 1 018 340) descrevem a preparação de complexos ternários substâncias

ativas/agente de interação com o complexo/ciclodextrina. Os processos utilizados são a malaxação (kneading), a secagem por pulverização (spray-drying), a evaporação ou a liofilização. O processo consiste quer em preparar o complexo do sal da substância ativa, quer colocar em contacto simultaneamente os 3 compostos no decurso do processo.

Uma patente (EP0153998 A2) apresentada por Chiesi et al. descreve a preparação de complexos de piroxicamo e de beta-ciclodextrina na presença, nomeadamente, de uma solução amoniaca. Contudo, o processo utilizado não utilizava CO₂ supercrítico.

Os dois únicos componentes que tratam da preparação do complexo com CO₂ supercrítico na presença de um agente de interação com o complexo são os seguintes:

Seguindo o mesmo método que o descrito previamente (Pharmaceutical Research, Vol. 16, N° 12, 1999), Van Hees et al. (Journal of inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, N° 44, p 271-274, 2002) descrevem a utilização de um agente de interação com o complexo, a L-Lisina ou o trometamol, na preparação de um complexo Piroxicamo/ β -ciclodextrina com CO₂ supercrítico.

A utilização da L-lisina ou do trometamol permite, por sua vez, aumentar a taxa de inclusão do piroxicamo na beta-ciclodextrina e de melhorar a dissolução do complexo formado.

A caracterização efetua-se através de:

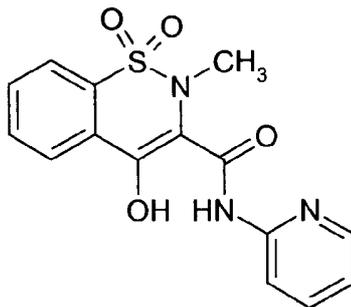
- DSC (Calorimetria de Exploração Diferencial)
- Técnica da solubilidade diferencial
- Cinética de dissolução em meio tamponado

Todavia nenhum agente de difusão é utilizado no decurso desta etapa. V. Barillaro et al. (Proceeding of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids, Versailles, p. 1897-1902, 2003) focalizaram-se mais na melhoria que se pode obter pela adição de um agente ácido de interação com o complexo para aumentar a taxa de inclusão do miconazole nas ciclodextrinas. Diferentes agentes de interação com o complexo (ácido málico, maleico, fumárico, cítrico) assim como diferentes ciclodextrinas (beta-ciclodextrina, HP-beta-ciclodextrina, γ -ciclodextrina, HP- γ -ciclodextrina) foram utilizados.

Contudo, a etapa de inclusão é realizada em modo dinâmico e não estático.

Nos dois documentos citados acima, é assim importante notar que a complexação por fluidos supercríticos é efetuada na mistura ternária substância ativa/agente de interação com o complexo/ciclodextrina e que, por outro lado, o agente de interação com o complexo não é a arginina.

A molécula de piroxicamo, representada abaixo, possui uma função enol e um ciclo piridina podendo ser salificados ou não, de acordo com o valor de pH do meio de dissolução.



Wiseman et al. (Arzneim.- Forsch./Drug Res. 26 (7) 1976, 1300 - 1303) determinaram numa mistura de dioxano :água 2 :1 (v/v) o valor de pKa da função enol (pKa ~2) e do ciclo piridina (pKa -6,3).

Segundo o valor de pH do meio de dissolução, a molécula de piroxicamo (PX) existirá assim sob diferentes formas, a saber :

pH < 2

- o ciclo piridina é protonado em ião piridínio (NH⁺)

- a função enol não é ionizada (-OH)

2 pH < 7

- o ciclo piridina é protonado (NH⁺)

- a função enol é ionizada em enolato (O^-).

E a estrutura zwitteriônica do piroxicamo. Em termos de conformação molecular a estrutura zwitteriônica é plana. Esta planeza resulta de ligações hidrogênio intramoleculares entre o anião enolato e o grupo amida por um lado pois a função carbonilo e o catião piridíno pelo outro lado.

pH > 7

- A função enol é ionizada (O^-)
- O ciclo piridina não é protonado (N).

Os inventores verificaram de maneira surpreendente que a separação das etapas de complexação e de adição do agente de interação com o complexo permitem melhorar sensivelmente as propriedades físico-químicas do complexo assim obtido. Além disso, estes perceberam também que a utilização da arginina como agente de interação com o complexo quando a substância ativa é o piroxicamo permite obter complexos possuindo as propriedades mais interessantes. O objetivo é o de melhorar a dissolução *in vivo* do piroxicamo em água, e incluindo o piroxicamo num suporte poroso solúvel e depois modificando as propriedades físico-químicas do sistema assim formado.

O presente invento descreve um processo de preparação de um composto de inclusão solúvel compreendendo uma

ou várias substâncias ativas pouco solúveis em meio aquoso incluídas em uma ou várias moléculas hospedeiras, caracterizado por compreender as seguintes etapas sucessivas :

a. colocação em contacto de uma ou várias substâncias com uma ou mais moléculas hospedeiras,

b. realização de uma etapa de difusão molecular por colocação em contacto, em modo estático, de um fluido denso sob pressão com a mistura obtida na etapa (a) na presença de um ou vários agentes de difusão,

c recuperação do complexo molecular substância ativa-molécula hospedeira assim formado,

d. realização de uma etapa que consiste em juntar e misturar um agente de interação com o complexo no complexo molecular substância ativa-molécula hospedeira,

e. recuperação do composto de inclusão solúvel assim formado.

Num processo de acordo com o presente invento, não existe etapa de lavagem com CO₂ supercrítico entre as etapas (c) e (d). Num outro modo de realização vantajoso, a etapa (e) é seguida por uma etapa (f) de secagem do composto de interação solúvel, vantajosamente entre 60°C e 80°C e, de modo vantajoso, durante uma noite.

O processo de acordo com o presente invento é assim constituído por um encadeamento de duas fases que são :

- a formação de um complexo de inclusão entre uma substância ativa e uma molécula hospedeira em meio supercrítico (etapas (a), (b) e (c))

- a « fixação » de maneira não covalente de um agente de interação com o complexo no complexo obtido, com o fim, nomeadamente, de melhorar as suas propriedades físico-químicas (etapas (d) e (e)).

O invento descrito tem, portanto, um processo em cinco etapas.

- As três primeiras etapas ditas de maturação, consistem, essencialmente, numa fase de difusão molecular em meio denso sob pressão e, nomeadamente, supercrítico, permitindo a inclusão de substâncias ativas nas moléculas hospedeiras, nomeadamente as ciclodextrinas. O objetivo procurado no decurso desta fase de difusão é o de formar complexos de inclusão entre as substâncias ativas e a molécula hospedeira.

Por "complexo de inclusão ou complexo molecular" entende-se, no presente invento, qualquer complexo que associe, de maneira não covalente, a substância ativa e a molécula hospedeira. Com vantagem, trata-se do complexo obtido na etapa (b) do processo de acordo com o presente invento.

Por "composto de inclusão solúvel" entende-se no domínio do presente invento qualquer entidade formada pela

associação do agente de interação com o complexo por um lado e o complexo molecular pelo outro lado. Com vantagem, trata-se do produto final obtido pelo processo de acordo com o presente invento.

Por "agente de interação com o complexo" entende-se, no domínio do presente invento, a L-arginina.

Por "fluido denso sob pressão" entende-se, no domínio do presente invento, qualquer fluido utilizado a uma temperatura ou uma pressão superiores ao seu valor crítico. Com vantagem, trata-se de CO₂ puro ou em mistura com um solvente orgânico classicamente utilizado por um especialista na matéria.

Por "substância ativa pouco solúvel num meio aquoso" entende-se, no domínio do presente invento, o piroxicamo.

Por "molécula hospedeira" entende-se, no domínio do presente invento, as ciclodextrinas e as suas misturas. De modo vantajoso, trata-se da β -ciclodextrina, da metil- β -ciclodextrina, da γ -ciclodextrina ou da hidroxipropil- β -ciclodextrina. Com vantagem, trata-se da β -ciclodextrina.

As ciclodextrinas são moléculas ditas "gaiola" pois estas têm, no seio da sua estrutura, uma cavidade relativamente rígida e hidrófoba que lhe permite aprisionar ou encapsular outras moléculas. O fenómeno de complexação é

o resultante de uma multiplicidade de interações (substrato/solvente, solvente/solvente e ciclodextrina/solvente) que conduzem ao estado termodinâmico mais estável:

- (1) as interações de Van der Waals;
- (2) as interações hidrófobas;
- (3) as ligações de hidrogénio;
- (4) a libertação de moléculas de água com uma energia elevada na altura da substituição pela molécula convidada;
- (5) a libertação de energia de tensão no seio da molécula de ciclodextrina na altura da formação do complexo.

O composto de inclusão solúvel consiste na associação do piroxicamo, de uma ciclodextrina e da arginina, com vantagem a L-arginina.

Por "agente de difusão" entende-se, no seio do presente invento, um agente de difusão escolhido no grupo constituído por álcoois, cetonas, éteres, ésteres e água com ou sem agente tensioativo e suas misturas. De modo ainda mais vantajoso, trata-se de água.

Por "modo estático" entende-se, no domínio do presente invento, uma reação ou um processo no qual todos os reagentes são colocados simultaneamente na presença e onde se deixa a reação a desenrolar-se. Por exemplo, na etapa (b) do presente invento, mete-se num autoclave a ou

as substância(s) ativa (s), água e CO₂ supercrítico e deixa-se a reagir durante várias horas. A massa de produto não evolui durante a reação. Ao contrário, em modo dinâmico, os reagentes são colocados à medida da evolução da reação ou da produção. Frequentemente, no domínio de um modo dinâmico, há circulação de um fluido ou de agitação. A massa de produto evolui durante a produção.

Na altura da etapa (a) a substância ativa e a molécula hospedeira são introduzidas sob forma sólida ou líquida num recipiente no qual na altura da etapa (b) é injetado o fluido denso sob pressão e o agente de difusão nas proporções judiciosamente escolhidas. As condições de pressão e temperatura assim como a duração do tratamento são definidas, por qualquer método adequado, em função da natureza da ou das substâncias ativas e da ou das moléculas hospedeiras.

De maneira vantajosa, a etapa (b) de difusão molecular do processo de acordo com o presente invento é realizada sob agitação.

O agente de difusão pode ser adicionado em contínuo ou em descontínuo numa quantidade compreendida entre 1 e 50% em massa, preferencialmente entre 10 e 25% em massa.

A razão molar substância ativa/molécula hospedeira/agente de interação com o complexo poderá ser

escolhida de maneira a assegurar a melhor inclusão da substância ativa no seio da molécula hospedeira. Assim, vantajosamente, a razão molar substância ativa/molécula hospedeira está compreendida entre 1/1 e 1/10, com vantagem entre 1/1 e 1/5, de maneira vantajosa entre 1/2 e 1/2,5, de maneira ainda mais vantajosa 1/2,5. Do mesmo modo, vantajosamente, a razão molar substância ativa/agente de interação com o complexo é compreendido entre 1/1 e 1/3, com vantagem 1/1, mais vantajosamente 1/1,2.

O tempo necessário à difusão molecular da etapa (b) é determinado por qualquer método adequado. Esta etapa (b) pode ser repetida tantas vezes quantas as desejadas para se obter uma velocidade de dissolução satisfatória. Com vantagem, a etapa (b) dura entre cerca de 1 e 16 horas.

As condições de pressão e de temperatura da etapa (b) são escolhidas de modo a favorecer a difusão molecular. Com vantagem, a pressão do fluido supercrítico está compreendida entre 0,5 MPa e 50 MPa e a temperatura entre 0 e 200°C.

Com vantagem, a etapa (b) do processo de acordo com o presente invento é realizado num reator fechado, em particular um autoclave.

O processo pode ser realizado em descontínuo ou em contínuo. De modo vantajoso o processo de acordo com o presente invento é realizado em descontínuo.

Com vantagem, a etapa (b) do processo de acordo com o presente invento é realizado num reator fechado eventualmente agitado, alimentado pelo fluido denso e a solução de substância ativa eventualmente em contínuo.

- As duas últimas etapas ((d) e (e)) consistem em juntar e misturar um agente de interação com o complexo no complexo substância ativa - molécula hospedeira.

Este agente de interação com o complexo interage de acordo com duas hipóteses plausíveis: interações fortes com a substância ativa incluída na molécula hospedeira na altura das etapas precedentes e/ou interações fortes com o complexo previamente formado.

Isto permite melhorar principalmente as propriedades de dissolução do complexo nos líquidos biológicos e, nomeadamente, água e eventualmente aumentar a taxa de inclusão da substância ativa na molécula hospedeira.

A melhoria das propriedades físico-químicas, nomeadamente em termos de dissolução do sistema formado pode ter por origem

- Uma interação não covalente do agente de interação com o complexo com a substância ativa, a molécula hospedeira ou os dois (complexação, salificação...)

- Uma variação local do pH do meio de dissolução

- A obtenção de um sistema apresentando um eutético

- Uma modificação da interface entre o sistema e o seu meio de dissolução (efeito tensioativo, mudança da granulometria)

Com vantagem, a etapa (d) do processo é realizada em meio semi-sólido, não estando o complexo dissolvido num meio aquoso antes da adição do agente de interação com o complexo. Este agente vai assim simplesmente humidificar o complexo ou formar uma pasta com o complexo. Com vantagem, a etapa (d) é realizada sob agitação.

O presente invento refere-se a um composto de inclusão solúvel compreendendo piroxicamo pouco solúvel num meio aquoso incluído numa ciclodextrina e arginina como agente de interação com o complexo, suscetível de ser obtido através do processo de acordo com o presente invento. Com vantagem, a taxa de inclusão da substância ativa no composto de inclusão solúvel de acordo com o presente invento é superior a 95% calculado por análise DSC tal como a descrita aqui a seguir, com vantagem superior a 98%, com vantagem próxima de 99%.

Com vantagem a solubilidade do princípio ativo quando se encontra sob a forma do complexo de acordo com o presente invento é superior a 2,5 g/l, com vantagem pelo menos igual a 3 g/l. Com vantagem, a taxa de solubilização da substância ativa contida numa solução a 4 g/l em água

medida a 38°C após entre 5 e 120 minutos de agitação é superior a 63%, com vantagem pelo menos igual a 75%. A substância ativa é o piroxicamo e a solubilidade e a taxa de solubilização são medidas a pH = 6,3.

A molécula hospedeira é a ciclodextrina, a substância ativa é o piroxicamo.

Com vantagem, o piroxicamo está presente no complexo de acordo com o presente invento sob uma estrutura zwitteriônica.

No domínio do presente invento, entende-se por "taxa de solubilização" a percentagem de piroxicamo solubilizado após 5 a 120 minutos de agitação a 37°C numa mistura de água e de piroxicamo. Utilizar-se-á usualmente para medir esta taxa uma mistura a 4 g/l de piroxicamo em água. Esta solubilização pode ser medida por um teste de solubilização tal como o indicado aqui a seguir (teste de solubilização do piroxicamo).

O presente invento refere-se, para além disso, a um complexo compreendendo piroxicamo, uma ciclodextrina e arginina, caracterizado por a taxa de solubilização do piroxicamo contido numa solução de 4 g/l em água, medida a 37°C após entre 5 e 120 minutos de agitação é superior a 90%, com vantagem superior a 95%, de forma vantajosa igual a 99%.

Por "ciclodextrinas", entende-se no domínio do presente invento as ciclodextrinas, as ciclodextrinas modificadas e suas misturas. De modo vantajoso, trata-se da β -ciclodextrina, da metil- β -ciclodextrina, da γ -ciclodextrina ou da hidroxipropil- β -ciclodextrina. Com vantagem, trata-se da β -ciclodextrina.

Com vantagem, o complexo piroxicamo-ciclodextrina-arginina de acordo com o presente invento, apresenta uma boa cristalinidade, de maneira vantajosa, este complexo apresenta menos de 40% em peso de fase amorfa, de maneira ainda mais vantajosa menos de 30% em peso de fase amorfa, com vantagem uma quantidade de fase amorfa inferior ou igual a 20% em peso.

Com vantagem, a taxa de inclusão do piroxicamo no complexo piroxicamo-ciclodextrina-arginina de acordo com o presente invento medida por análise calorimétrica diferencial tal como a descrita a seguir é superior a 98%, com vantagem superior a 99%, de maneira vantajosa próxima de 100%. Com vantagem, o piroxicamo está presente no complexo de acordo com o presente invento sob uma estrutura zwitteriônica.

Os complexos piroxicamo, ciclodextrina e arginina de acordo com o presente invento são suscetíveis de serem obtidos pelo processo tal como descrito a seguir. Contudo, estes são igualmente suscetíveis de serem obtidos pelo processo anterior.

Assim, um processo de preparação de um complexo piroxicamo-ciclodextrina-arginina de acordo com o presente invento compreende as etapas sucessivas seguintes:

(1) colocação em contacto do piroxicamo com uma ciclodextrina e a arginina,

(2) realização de uma etapa da difusão molecular por colocação em contacto, em modo estático, de um fluido denso sob pressão com a mistura obtida na etapa (1) na presença de um ou vários agentes de difusão,

(3) recuperação do complexo piroxicamo-ciclodextrina-arginina assim formada.

Este processo permite, no caso dos complexos piroxicamo-ciclodextrina-arginina, obter complexos possuindo propriedades particulares.

A etapa (2) de difusão molecular em modo estático designada por etapa de maturação, consiste essencialmente numa fase de difusão molecular em meio denso sob pressão e, nomeadamente, supercrítico, permitindo incluir o piroxicamo nas ciclodextrinas. O objectivo pretendido no decurso desta fase de difusão é o de formar complexos de inclusão entre o piroxicamo, a ciclodextrina e a arginina. O complexo assim formado associa de maneira não covalente o piroxicamo, a ciclodextrina e a arginina.

A arginina que serve de agente de interacção

interage de acordo com duas hipóteses plausíveis: interações fortes com o piroxicamo incluído na ciclodextrina e/ou interações fortes com o complexo formado.

A presença da arginina permite melhorar principalmente as propriedades de dissolução do complexo nos líquidos biológicos e, nomeadamente, na água.

A melhoria das propriedades físico-químicas, nomeadamente em termos de dissolução do sistema formado pode ter como origem

- uma interacção não covalente de arginina com o piroxicamo, a ciclodextrina ou os dois (complexação, salificação...)

- uma variação local do pH do meio de dissolução

- a obtenção de um sistema que apresenta um eutéctico

- uma modificação da interface entre o sistema e o seu meio de dissolução (efeito tensioativo, mudança granulométrica).

Por "fluido denso sob pressão" entende-se, no domínio do presente invento, qualquer fluido utilizado a uma temperatura ou a uma pressão superior ao seu valor crítico. Com vantagem trata-se de CO₂ puro ou em mistura com um solvente orgânico classicamente utilizado pelos especialistas na matéria.

Por "agente de difusão", entende-se no domínio do presente invento um agente de difusão escolhido do grupo constituído por álcoois, cetonas, éteres, ésteres e água com ou sem agente tensioativo e suas misturas. De maneira ainda mais vantajosa, trata-se de água.

Por "modo estático" entende-se, no domínio do presente invento, uma reacção ou um processo no qual todos os reagentes são colocados simultaneamente em presença e onde se deixa a reacção desenrolar. Por exemplo, na etapa (2) do presente invento, coloca-se num autoclave o piroxicamo, a água, a arginina e CO₂ supercrítico e deixa-se reagir durante várias horas. A massa de produto não evolui durante a reacção. Inversamente, em modo dinâmico, os reagentes são adicionados à medida da evolução da reacção ou da produção. Frequentemente, no domínio de um modo dinâmico, há circulação de um fluido. A massa de produto evolui durante a produção.

De maneira vantajosa, a etapa (2) de difusão molecular do processo de acordo com o presente invento é realizada sob agitação.

Num modo de realização particular do invento, na altura da etapa (1), o piroxicamo, a arginina e as ciclodextrinas são introduzidos sob forma sólida ou líquida num recipiente no qual é injectado o fluido denso sob pressão e o agente de difusão nas proporções judiciosamente escolhidas. As condições de pressão e temperatura assim

como a duração do tratamento são definidas através de qualquer método adequado.

A razão molar piroxicamo/ciclodextrina/arginina poderá ser escolhida de maneira a assegurar a melhor inclusão do piroxicamo no seio das ciclodextrinas. Deste modo, com vantagem, a razão molar piroxicamo/ciclodextrina/arginina está compreendida entre 1/1 e 1/10, com vantagem entre 1/1 e 1/5, de maneira vantajosa entre 1/2 e 1/2,5, de maneira ainda mais vantajosa 1/2,5. Do mesmo modo, vantajosamente, a razão molar piroxicamo/ciclodextrina/arginina está compreendida entre 1/1 e 1/3, com vantagem 1/1, mais vantajosamente 1/1,2.

O agente de difusão pode ser adicionado em contínuo ou em descontínuo numa quantidade compreendida entre 1 e 50% em massa em relação à massa total da mistura, com vantagem entre 20 e 25% em massa em relação à massa total da mistura.

O tempo necessário para a difusão molecular na etapa (2) é determinado através de qualquer método adequado. Esta etapa (2) pode ser realizada tantas vezes quanto desejado para se obter uma velocidade de dissolução satisfatória. Com vantagem, a etapa (2) dura entre cerca de 2 e 16 horas, com vantagem 1 hora.

As condições de pressão e de temperatura da etapa (2) são escolhidas de modo a favorecer a difusão molecular.

Com vantagem a pressão do fluido supercrítico está compreendida entre 5 MPa e 40 MPa, com vantagem 15 MPa e a temperatura entre 0 e 120°C, com vantagem 100°C.

Com vantagem a etapa (2) do processo de acordo com o presente invento é realizada num reator fechado, em particular um autoclave.

O processo pode ser realizado em descontínuo ou em contínuo. De maneira vantajosa o processo de acordo com o presente invento é realizado em descontínuo.

Com vantagem a etapa (2) do processo é realizada num reator fechado eventualmente agitado, alimentado pelo fluido denso e o piroxicamo e, neste caso, em contínuo.

A realização da etapa de difusão molecular em meio denso sob pressão na presença de um agente de difusão permite uma forte interação das partículas de piroxicamo com as ciclodextrinas, o que favorece a dissolução em meio aquoso.

O presente invento refere-se, além disto, a uma composição farmacêutica compreendendo um complexo piroxicamo-ciclodextrina-arginina de acordo com o presente invento e, eventualmente, um excipiente farmacêuticamente aceitável.

O presente invento refere-se igualmente a um

complexo piroxicamo-ciclodextrina-arginina de acordo com o presente invento ou uma composição farmacêutica de acordo com o presente invento como medicamento, possuindo com vantagem uma acção anti-inflamatória e com vantagem destinada a tratar reumatismos inflamatórios, a poliartrite, a artrose, as tendinites ou as doenças pós-traumáticas do aparelho locomotor.

Os exemplos seguintes são dados a título indicativo.

Os diferentes exemplos propostos foram realizados com piroxicamo como substância ativa da beta-ciclodextrina como molécula hospedeira e água como agente de difusão. O amoníaco ou a arginina foram utilizados como agente de interacção com o complexo.

Descrição das figuras

A figura 1 representa o espectro de RMN do complexo obtido de acordo com o exemplo 7.

A figura 2 representa o espectro ROESY-NOE intramolecular do complexo obtido de acordo com o exemplo 7.

A figura 3 representa o perfil TG-DGT (análise termogravimétrica) da β -ciclodextrina utilizando o processo seguinte: aumento da temperatura de 5°C por minuto até 450°C e depois diminuição da temperatura de 10°C por minuto até 80°C.

A Figura 4 representa o perfil de DSC da β -ciclodextrina utilizando o processo seguinte: um equilíbrio a 0°C seguido de um aumento da temperatura de 5°C por minuto até 240°C.

A figura 5 representa o perfil da análise termogravimétrica da L-arginina utilizando o mesmo processo que o da figura 3.

A figura 6 representa o perfil DSC da arginina utilizando o mesmo processo que o da figura 4.

A figura 7 representa o perfil DSC do piroxicamo utilizando o mesmo processo que o da figura 6.

A figura 8 representa o perfil DSC de uma amostra de piroxicamo fundido a 260°C e depois arrefecido a 0°C utilizando o processo de equilíbrio a 205°C, de diminuição da temperatura de 20°C por minuto até 0°C e de aumento da temperatura de 5°C por minuto até 220°C.

A figura 9 representa o perfil DSC do complexo obtido de acordo com o exemplo 7 utilizando o processo de equilíbrio a 0°C, de aumento da temperatura de 5°C por minuto até 240°C e depois diminuição da temperatura de 5°C por minuto até 80°C.

A figura 10 representa o perfil TG-DGT do

complexo obtido de acordo com o exemplo 7 utilizando o processo de aumento da temperatura de 5°C por minuto até 450°C e depois diminuição da temperatura de 10°C por minuto até 80°C.

As figuras 11 a 16 representam a modelização molecular da estrutura minimizada do complexo de inclusão piroxicamo- β -ciclodextrina 1:2. Em particular a figura 11 representa a vista de perfil com os átomos de hidrogénio, a figura 12 representa a vista de perfil sem os átomos de hidrogénio, a figura 13 representa a vista da cavidade do lado do ciclo da benzotiazina com os átomos de hidrogénio, a figura 14 representa a vista da cavidade do lado do ciclo da benzotiazina sem os átomos de hidrogénio, a figura 15 representa a vista da cavidade do lado do ciclo da piridina com os átomos de hidrogénio e a figura 16 representa a vista da cavidade do lado do ciclo da piridina sem os átomos de hidrogénio.

A figura 17 representa o difractograma de raios X do complexo obtido de acordo com o exemplo 7 e do complexo obtido com o processo da patente EP 0 153 998.

Análise:

A taxa de inclusão da substância ativa na molécula hospedeira é avaliada por análise térmica diferencial (DSC).

As análises DSC dos complexos obtidos de acordo com os exemplos 1 a 6 foram realizadas da maneira seguinte:

Aplica-se uma rampa de temperatura sob fluxo de azoto ao produto a testar, com o auxílio de um aparelho DSC 7 Perkin Elmer.

O rendimento de complexação é avaliado por medição da redução (ou desaparecimento) do pico térmico relativo à fusão do princípio ativo "que fica livre" sob forma cristalina.

A análise DSC do complexo obtido de acordo com o exemplo 7 foi realizado da maneira seguinte:

O equipamento, DSC Q100 TA Instruments, foi calibrado com o auxílio do sinal de fusão do índio sob um fluxo de azoto de 50 ml.min^{-1} . A amostra é analisada num cadinho hermético de 5°C.min^{-1} .

As análises termogravimétricas são realizadas com o auxílio do equipamento TGA2950 HR TA Instruments com o fim de determinar o domínio da estabilidade térmica das amostras. O aparelho é calibrado à temperatura ambiente e com o auxílio do ponto de Curie do níquel a $360,46^\circ\text{C}$. A precisão da balança é verificada por análise de uma amostra de oxalato de cálcio.

A análise é realizada sob um fluxo de azoto de 60 ml.min^{-1} de 25°C a 450°C .

A quantidade de água nas amostras é determinada por coulometria com o auxílio do coulómetro Mettler KF DL37. O equipamento é aferido com o PADRÃO de di-hidrato de tartarato de sódio ($\%H_2O = 15,66 \pm 0,05\%$).

A difração de raios X de pós é realizada com o equipamento e as condições seguintes:

- difractómetro Philips Xpert MPD, gerador Philips tensão kV intensidade 20 mA
- anticátodo de cobre ($K\alpha = 1,5418367$ angstrom), filtro de Ni
- fenda de entrada 1/8
- detector Xcelerator
- modo de varrimento contínuo
- amostra triturada em pó sobre plaqueta
- domínio angular (2θ) 4 a 100
- duração do varrimento: 80 segundos

A análise das fases é realizada com o auxílio do programa Visual CRYSTAL.

Os espectros de difusão de Raman são obtidos com o equipamento e as condições seguintes:

- Espectrómetro de Raman Labram HR 800 Jobin Yvon
- Temperatura: 22°C
- Amostras: pó sobre lamela de microscópio

- Comprimento de onda excitatriz: 752 nm, potência do laser 10 mW na amostra
- Resolução espectral 2 cm⁻¹, volume de difusão de cerca de 1 μm³ (rede 600 fieiras)

O espectro de RMN de próton é registado num espectrómetro DPX AVANCE Bruker com a frequência nominal de 400 MHz utilizando uma sonda inversa de banda larga equipada com um acessório de gradiente de campo de acordo com o eixo Z. O espectrómetro é previamente fixado na frequência de ressonância do deutério do solvente de solubilização, neste caso o sulfóxido de dimetilo-d₆ (Eurisotop, ref. D 310B, lote A 2731). Os deslocamentos químicos são dados em ppm em relação ao TMS (tetrametilsilano) utilizado como padrão interno.

O espectro ROESY (Rotating frame Overhauser Enhancement Spectroscopy) é obtido aplicando o microprograma de impulsos Bruker "roesytp. 2". O registo é realizado em modo faseado com 1024 incrementos e 72 varrimentos por incremento com uma duração total de experiência de 53 horas por produto. A aquisição é realizada selecionando uma janela espectral de 6410,256 Hz, com um atraso na relaxação de 2 s e um tempo de bloqueamento de spin de 350 ms. Previamente, o registo do espectro da amostra é corretamente desgaseificado com o fim de observar o máximo do efeito NOE intra e intermolecular.

Tendo conta a baixa solubilidade dos complexos na

água e a sensibilidade do espectrómetro de RMN na nossa posse, preferimos trabalhar com o sulfóxido de dimetilo deuterado com o qual é possível a atingir uma concentração de 2% (p/v) no complexo.

Modelização molecular: A otimização do complexo de inclusão piroxicamo- β -ciclodextrina (1:2) é realizada com o programa Hyperchem®, versão 6.02 (Hypercube, Gainesville, EUA), implementado num computador pessoal Pentium III modelo HP Vectra.

A estrutura molecular do piroxicamo utilizada para os cálculos de minimização é tirada da publicação de Jon Bordner et coll. (Acta Cryst., 1984, C40, 989 - 990).

A estrutura molecular da β -ciclodextrina provém de Cambridge Crystallographic Database (M.R. Caira et al., J. Chem. Soc., Chem. Commun, 1994, 1061 - 1062).

A minimização da energia da geometria e da conformação do complexo é realizada com o auxílio do campo de força MM2.

A simulação das propriedades físico-químicas (pKa, LogD e solubilidade) a partir da molécula de piroxicamo é realizada com o programa ACD/log D suite (ACD/labs software, Toronto, Canadá).

Para medir as propriedades da dissolução do pó, dissolve-se o equivalente a 4 g/l de piroxicamo numa solução aquosa, a 37°C. Ao fim de 15 min, efetua-se uma recolha e depois mede-se por HPLC a quantidade de piroxicamo dissolvida, o resultado é expresso em gramas de piroxicamo dissolvido por litro de água.

Segundo este método, a solubilidade do piroxicamo puro em água é inferior a 0,2 g/l.

TESTE DE SOLUBILIZAÇÃO DO PIROXICAMO

Protocolo da operação:

O doseamento do Piroxicamo na solução de dissolução é realizado por HPLC:

Aparelhagem utilizada:

Sistema HPLC WATERS:

- Módulo de separação 2695,
- Detetor UV 2487.

Condições cromatográficas:

Coluna: WATERS X-Terra MS C18 250x4,6 mm.

1.1.1.1.1.1 Fase móvel: Via A

60% Tampão pH=3,5 KH_2PO_4 6,81 g/l ajustado ao pH com H_3PO_4 diluído R,

40% acetonitrilo

Caudal: 1 ml/min

Comprimento de onda do detetor: 230 nm

Sensibilidade do detetor: 2 AUFS

Volume injetado: 20 μl

Temperatura do forno: 40°C

Tempos de análise: 12 minutos

Preparação das soluções testemunho:

Solução testemunho: SM: Introdução de 50 mg de Piroxicamo testemunho num balão de 100 ml. Dissolver com 20 ml de dimetilformamida e completar o volume com metanol. 1.

Gama:

T1: Diluição a 1/20 de T3 em 40 acetonitrilo/60 água.

T2: Diluição a 1/10 de T3 em 40 acetonitrilo/60 água.

T3: Diluição a 1/100 de SM em 40 acetonitrilo/60 água.

T4: Diluição a 1/50 de SM em 40 acetonitrilo/60 água.

T5: Diluição a 1/20 de SM em 40 acetonitrilo/60 água.

Condições operatórias das cinéticas de dissolução
a 4 g/l:

Realização do ensaio:

Condições operatórias:

Num erlenmeyer de 100 ml, introduzir uma toma de ensaio equivalente a 200 mg de Piroxicamo. Adicionar 50 ml de água. Colocar sob agitação magnética a 400 rotações por minuto, num banho termostaticado a 37°C +/- 2°C. Efetuar uma toma de 2 ml sob agitação magnética a 5, 30, 60, 120 minutos. Filtrar as recolhas num filtro de polipropileno 0,45 µm Gelman GHP Acrodisc. A solução deve ser límpida.

Diluir a toma a 1/200 na fase móvel.

Metodologia, expressão dos resultados:

Injetar 20 µl de cada solução testemunho.

Efetuar uma regressão linear das superfícies dos picos de Piroxicamo em relação às concentrações. O coeficiente de correlação deve ser superior a 0,995.

Injetar 20 µl das soluções a examinar.

Medir o ar do pico de Piroxicamo em cada solução a examinar.

Deduzir a concentração X em µg/ml a partir da regressão dos testemunhos.

Calcular a concentração em µg por ml de Piroxicamo solubilizado multiplicando pelo inverso da diluição realizada (i.e.: 200).

A taxa de solubilização do piroxicamo é calculada dividindo a concentração de piroxicamo solubilizado pela concentração de piroxicamo total da solução de partida.

Exemplo comparativo 1: Resultados obtidos utilizando o processo de acordo com o presente invento

8 gramas de piroxicamo, 76 gramas de beta-ciclodextrina, 25,2 g de água são misturados e introduzidos num reator de 2 litros. O dióxido de carbono é, em seguida introduzido no reator sob uma pressão de 200 bar e sob uma temperatura de 150°C. O conjunto é mantido nestas condições operatórias com uma duração de duas horas.

Após a etapa dita de maturação, uma parte do pó recolhido (12 g) é misturada com 2,11 g de uma solução amoniacal a 28%, e depois colocada numa estufa ventilada a 60°C, durante uma noite.

Análise por DSC revela uma taxa de inclusão de piroxicamo na ciclodextrina de 99%, sendo a dissolução de piroxicamo de 3,019 g/l.

Exemplo comparativo 2: Resultados obtidos após a etapa de maturação sem juntar agente de interação com o complexo

4 g de piroxicamo, 38 gramas de beta-ciclodextrina, 8,95 gramas de água são misturados e introduzidos num reator de dois litros. O dióxido de carbono é em seguida introduzido no reator sob pressão de 150 bar e sob uma temperatura de 150°C. O conjunto é mantido nestas condições operatórias durante duas horas.

Após repouso do meio, uma parte do pó recolhido é colocado numa estufa ventilada a 60°C, durante uma noite. Análise por DSC revela uma taxa de inclusão de piroxicamo na ciclodextrina de 80%, sendo a dissolução de piroxicamo de 0,246 g/l.

Exemplo comparativo 3: Resultados obtidos se o agente de interação com o complexo estiver presente no decurso da etapa de maturação (b)

2 g de piroxicamo, 19 g de beta-ciclodextrina, 3,75 g de água e 1,5 g de solução amoniacal a 28% são misturados e introduzidos num reator de dois litros. O dióxido de carbono é em seguida introduzido no reator sob uma pressão de 200 bar e sob uma temperatura de 160°C. O conjunto é mantido nestas condições operatórias durante duas horas.

Após repouso do meio, o pó recolhido é colocado numa estufa ventilada a 60°C, durante uma noite. Análise por DSC revela uma taxa de inclusão de piroxicamo na ciclodextrina de 50%, sendo a dissolução de piroxicamo de 1,075 g/l.

Exemplo comparativo 4: Resultados obtidos se se tenta fixar o agente de interação na molécula hospedeira antes da etapa de maturação (b)

19 g de beta-ciclodextrina, 2,11 g de solução amoniacal a 28% e 3,15 g de água purificada são misturados e introduzidos numa estufa ventilada a 60°C, durante uma noite. Junta-se em seguida 2 g de piroxicamo e 6,57 g de água. A mistura é em seguida introduzida num reator de dois litros. O dióxido de carbono é em seguida introduzido no reator sob uma pressão de 200 bar e sob uma temperatura de 160°C. O conjunto é mantido nestas condições operatórias durante duas horas.

Análise por DSC revela uma taxa de inclusão de piroxicamo na ciclodextrina de 92%, sendo a dissolução de piroxicamo de 0,23 g/l.

Exemplo comparativo 5: Resultados obtidos se se tenta fixar o agente de interação na substância ativa antes da etapa de maturação (b)

2 g de piroxicamo, e 2 g de solução amoniacal a 28% são misturados e introduzidos numa estufa ventilada a

60°C, durante uma noite. Junta-se em seguida 14,3 g de beta-ciclodextrina e 3,3 g de água. A mistura é em seguida introduzida num reator de dois litros. O dióxido de carbono é em seguida introduzido no reator sob uma pressão de 150 bar e sob uma temperatura de 150°C. O conjunto é mantido nestas condições operatórias durante duas horas.

Análise por DSC revela uma taxa de inclusão de piroxicamo na ciclodextrina de 56%, sendo a dissolução de piroxicamo de 1,370 g/l.

Exemplo comparativo 6: Resultados utilizando o processo de acordo com o presente invento com lotes de dimensão industrial: 12,5 kg

1,1 kg de piroxicamo, 10,6 kg de beta-ciclodextrina, 1,3 kg de água são misturados e introduzidos num reator de 50 litros. O dióxido de carbono é em seguida introduzido no reator sob uma pressão de 150 bar e sob uma temperatura de 100°C. O conjunto é mantido nestas condições operatórias durante duas horas.

Uma parte do pó é colocado numa estufa a 80°C durante uma noite. Análise por DSC revela uma taxa de inclusão de piroxicamo na ciclodextrina de 89%, sendo a dissolução de piroxicamo de 1,937 g/l.

O pó recolhido (12,6 kg) é misturado a 2,6 kg de uma solução amoniaca a 28% e depois colocado numa estufa ventilada a 60°C.

Análise por DSC revela uma taxa de inclusão de piroxicamo na ciclodextrina de 100%, sendo a dissolução de piroxicamo de 3 g/l.

Resumo dos resultados obtidos

A tabela 1 a seguir mostra os resultados dos diferentes exemplos 1 a 6 indicados atrás e permite constatar o valor acrescido do processo de acordo com o presente invento.

Tabela 1:

Processo / Matérias	/	Ex.1	Ex. Comp. 2	Ex. Comp. 3	Ex. Comp. 4	Ex. Comp. 5	Ex. 6
Matérias utilizadas:							
• Piroxicamo	X	X	X	X	X		X
• Piroxicamo previamente misturado com o agente de interação com o complexo						X	
• β -ciclodextrina		X	X	X		X	X
• β -ciclodextrina previamente misturada com o agente de interação com o complexo					X		
1ª fase : Complexação em meio de CO ₂ supercrítico		X	X		X	X	X
2ª fase : adição de agente de interação com o complexo		X					X
1 só fase : Complexação com o agente de interação com o complexo em meio de CO ₂ supercrítico				X			
Taxa de complexação (DSC)	/	99%	80%	50%	92%	56%	100 %
Dissolução (g/l)	< 0,2	3,02	0,25	1,07	0,23	1,37	> 3

Exemplo 7: complexo Piroxicamo, β -ciclodextrina, arginina

43 gramas de piroxicamo, 384 gramas de β -ciclodextrina e 25 gramas de arginina são introduzidos num reator, assim como 61 gramas de agente de difusão (água). O dióxido de carbono é em seguida introduzido no reator sob uma pressão de 15 MPa e sob uma temperatura de 100°C. O conjunto é mantido nestas condições operatórias durante uma hora.

Nos complexos obtidos, são medidas a cinética de dissolução e a taxa de solubilização como indicado atrás no « Teste de solubilização DO PIROXICAMO ». Os resultados são mostrados na Tabela 2 a seguir.

Tempos (minutos)	Concentração em piroxicamo ($\mu\text{g/ml}$)	Taxa de solubilização (%)
5	3863	96,6
30	3854	96,4
60	3941	98,5
120	3962	99

RMN :

O espectro de RMN ^1H de um complexo obtido de acordo com o exemplo 7 (figura 1) está de acordo com a composição química deste composto.

O sinal observado a 13,5 ppm é atribuído ao próton piridínio sendo uma prova suplementar da existência de uma estrutura zwitteriônica do piroxicamo no complexo obtido de acordo com o exemplo 7.

Análise do espectro ROESY (figura 2)

Este estudo que permite estudar as transferências de magnetização entre os prótons próximos no espaço vai-nos clarificar sobre o modo de inclusão do piroxicamo na β -ciclodextrina e assim permite-nos modelizar o complexo correspondente.

A partir da carta ROESY distinguimos os efeitos NOE intramoleculares (entre os prótons da mesma molécula) os efeitos NOE intermoleculares (entre os prótons que pertencem a moléculas diferentes). Se os efeitos NOE intramoleculares são, bem entendido, instrutivos em termos de análise conformacional não citaremos senão os efeitos NOE intermoleculares que são a prova de um encapsulamento do piroxicamo na β -ciclodextrina. A análise do espectro ROESY registado para um complexo obtido de acordo como exemplo 7 (figuras 2) mostra claramente os picos de relaxação cruzados entre H-9/10 do piroxicamo e H-5' da β CD e depois entre H-7, H-6, H-3 do piroxicamo e H-3' da β -ciclodextrina. Estes resultados estão de acordo com um complexo de inclusão 1:2, piroxicamo : β -ciclodextrina.

Análise térmica e doseamento de água: A análise termogravimétrica da β -ciclodextrina (figura 3) coloca em evidência duas transições a 70,6 e 313°C. A primeira corresponde a uma perda em peso de 13,4% de acordo com a quantidade de água determinada por coulometria (14,1%), a segunda transição é atribuída à decomposição térmica da β -ciclodextrina.

Análise por DSC (figura 4) mostra uma grande endotermia centrada em 162°C correspondendo ao fenómeno de desidratação. A análise termogravimétrica da arginina (figura 5) mostra que esta é estável até cerca de 230°C antes de se decompor. São observadas duas endotermias no perfil DSC (figura 6), a primeira a 215,6°C (fusão ou transição de fases) a segunda a 234°C ligada ao fenómeno da decomposição.

O perfil de DSC do piroxicamo mostra que a fusão ocorre a 201°C com uma entalpia de 104 J.g⁻¹ (figura 7).

São realizados ciclos de aquecimento e arrefecimento, nos quais uma amostra de piroxicamo é fundida a 205°C e depois arrefecida a 0°C. O perfil de DSC desta amostra (figura 8) mostra a existência de uma transição vítrea a 62°C, característica do estado amorfo que cristaliza a 122°C. Uma baixa endotermia a 178°C seguida de uma exotermia e depois de uma última endotermia a 197°C traduzem a existência de várias formas cristalinas do piroxicamo (polimorfismo).

As duas endotermias a 178°C e 197°C serão atribuídas, respetivamente, à fusão das formas III e II enquanto que a amostra inicial antes do tratamento térmico corresponde à forma I (fusão a 201°C) (F. Vrečer, S. Srčići e Šimid-Korbar, International Journal of Pharmaceutics 68 (1991) 35-41).

O teor de água do complexo obtido de acordo com o exemplo 7 é da ordem de 10% p/p, como indicado na tabela 3 seguinte:

Tabela 3 - resultado dos teores de água do complexo do exemplo 7

complexo	teor H ₂ O (TGA)	teor H ₂ O (coulometria)
obtido segundo o Exemplo 7	9,99%	10,14 %

O perfil de DSC do complexo obtido de acordo com o exemplo 7 (figura 9) não mostra as transições a 198-200°C e a 218°C sugerindo uma inclusão próxima de 100%.

O perfil TG DGT do complexo obtido de acordo com o exemplo 7 (figura 10) mostra uma transição a 191°C. Atribui-se esta transição à decomposição da arginina. Com efeito, a primeira etapa de decomposição da arginina corresponde a uma perda de peso da ordem de 39,2% e se

tivermos em conta o teor de arginina no complexo, cerca de 6% p/p (determinação por RMN), esta perda de peso deveria ser da ordem de 2,35% p/p, em excelente acordo com a observada para os perfis TG e DTG a 191°C (2,40%).

Modelização molecular: A estrutura minimizada do complexo de inclusão piroxicamo : β -ciclodextrina (1:2) é representada nas figuras 11 a 16. Esta estrutura otimizada tem em conta interações espaciais observadas por espectrometria ROESY.

Como é indicado na publicação G.M. Escandar (Analyst, 1999, 124, 587 - 591), a molécula de piroxicamo é muito volumosa (cerca de 6 x 13,7 Å) para ser inteiramente encapsulado numa cavidade da β -ciclodextrina. Com um complexo PX:(β CD)₂ a molécula de piroxicamo está totalmente incluída.

Simulação das propriedades físico-químicas: variação de solubilidade de piroxicamo em função do pH do meio de dissolução. A estrutura zwitteriônica apresenta entre pH 2 e 6, a solubilidade mais fraca. O valor de logD evolui em relação a ela e no sentido inverso. No intervalo de pH 2-6, a molécula é relativamente hidrófoba o que representa uma outra interação favorável ao encapsulamento. Entre pH 6 e pH 7,5 o zwitteriã está ainda presente e o valor da solubilidade aumenta sensivelmente em função do pH. Daí o interesse de preparar complexos nesta zona de pH com o fim de adicionar os dois efeitos solubilizantes que

são o encapsulamento por um lado e a salificação do piroxicamo por outro lado. Os valores medidos de pH são indicados a seguir: complexo de acordo com o exemplo 7 a 13,9 mg/10 ml H₂O = pH 7,87. Difrações de raios X do complexo obtido de acordo com o exemplo 7 e do complexo obtido de acordo com o processo descrito no documento EP 0 153 998: o difractograma está representado na figura 17. O difractograma de pó do complexo de acordo com o exemplo 7 mostra raios de difração intensos e muito bem resolvidos apresentando a prova de uma melhor cristalinidade desta amostra em relação à do complexo de acordo com o processo da patente EP 0 153 998. De acordo com o programa Visual CRYSTAL, o complexo obtido de acordo com o exemplo 7 apresenta entre 16 e 20% em peso de fase amorfa.

Exemplo 8: complexo de Piroxicamo, β-ciclodextrina, arginina

400 gramas de piroxicamo, 3832 gramas de β.ciclodextrina e 253 gramas de arginina são introduzidos num reator, assim como 613 gramas de agente de difusão (água). O dióxido de carbono é, em seguida, introduzido no reator sob uma pressão de 15 MPa e sob uma temperatura de 100°C. O conjunto é mantido nestas condições operatórias durante uma hora.

Nos complexos obtidos são medidos a cinética de dissolução e a taxa de solubilização como indicado atrás no « Teste de solubilização DO PIROXICAMO ». Os resultados são apresentados na Tabela 3 a seguir.

Tempos (minutos)	Concentração em piroxicamo ($\mu\text{g/ml}$)	Taxa de solubilização (%)
5	3953	98,8
30	3895	97,3
60	3952	98,8
120	4041*	100

*Resultado em coerência com a incerteza ligada à medição.

Lisboa, 25 de julho de 2013

REIVINDICAÇÕES

1. Complexo de inclusão compreendendo piroxicamo, uma ciclodextrina e arginina caracterizado por a taxa de solubilização do piroxicamo contido numa solução a 4 g/l em água, medida a 37°C após entre 5 e 120 minutos de agitação é superior a 90%, com vantagem superior a 95%, de modo vantajoso igual a 99%.

2. Complexo de inclusão compreendendo piroxicamo, uma ciclodextrina e arginina caracterizado por compreender menos de 40% em peso de fase amorfa, com vantagem menos de 30% em peso.

3. Complexo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 ou 2 caracterizado por a ciclodextrina ser uma beta-ciclodextrina.

4. Complexo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 caracterizado por compreender estas sucessivas seguintes:

(1) colocação em contacto do piroxicamo com uma ciclodextrina e arginina,

(2) realização de uma etapa de difusão molecular por colocação em contacto, em modo estático, de um fluido denso sob pressão com a mistura obtida na etapa (a) na presença de um agente de difusão escolhido do grupo

constituído por álcoois, ceteonas, éteres, ésteres e água com ou sem agente tensioativo e suas misturas,
(3) recuperação do complexo piroxicamo-ciclodextrina-arginina assim formado.

5. Processo de acordo com a reivindicação 4 caracterizado por o fluido denso sob pressão ser o dióxido de carbono.

6. Complexo de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 ou 5 caracterizado por o agente de difusão ser água.

7. Complexo de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 a 6 caracterizado por a etapa (2) de difusão molecular ser realizada com agitação.

8. Complexo de acordo com qualquer uma das reivindicações 4 a 7 caracterizado por o agente de difusão ser adicionado em contínuo ou em descontínuo numa quantidade compreendida entre 1 e 50% em massa em relação à massa total da mistura, preferencialmente entre 10 e 25% em massa em relação à massa total da mistura.

9. Composição farmacêutica compreendendo um complexo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 e eventualmente um excipiente farmacêuticamente aceitável.

10. Complexo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 ou composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 9 como medicamento, possuindo com vantagem uma ação anti-inflamatória e com vantagem destinado a tratar reumatismos inflamatórios, a poliartrite, a artrose, as tendinites ou as doenças pós-traumáticas do aparelho locomotor.

Lisboa, 25 de julho de 2013

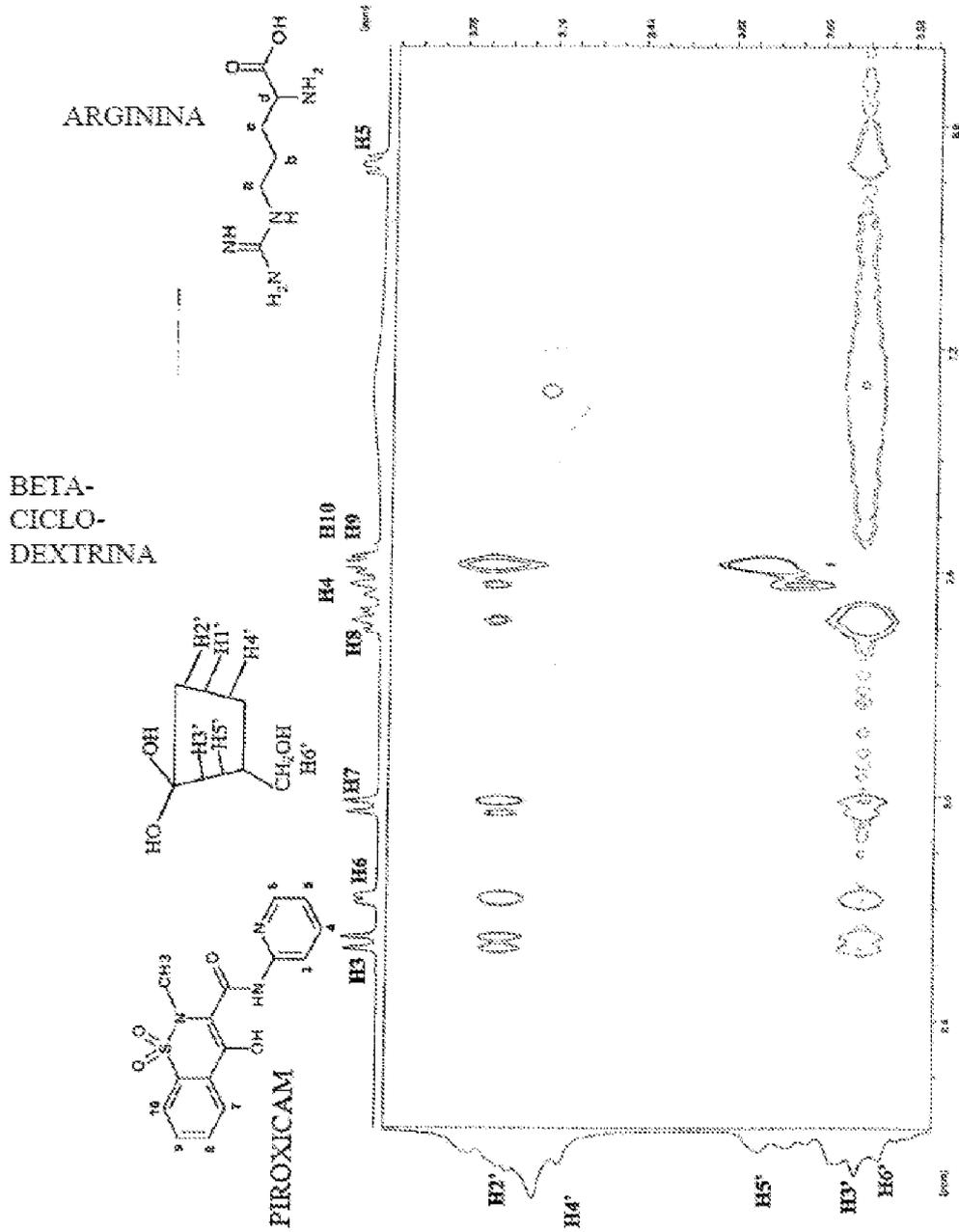


Figura 2

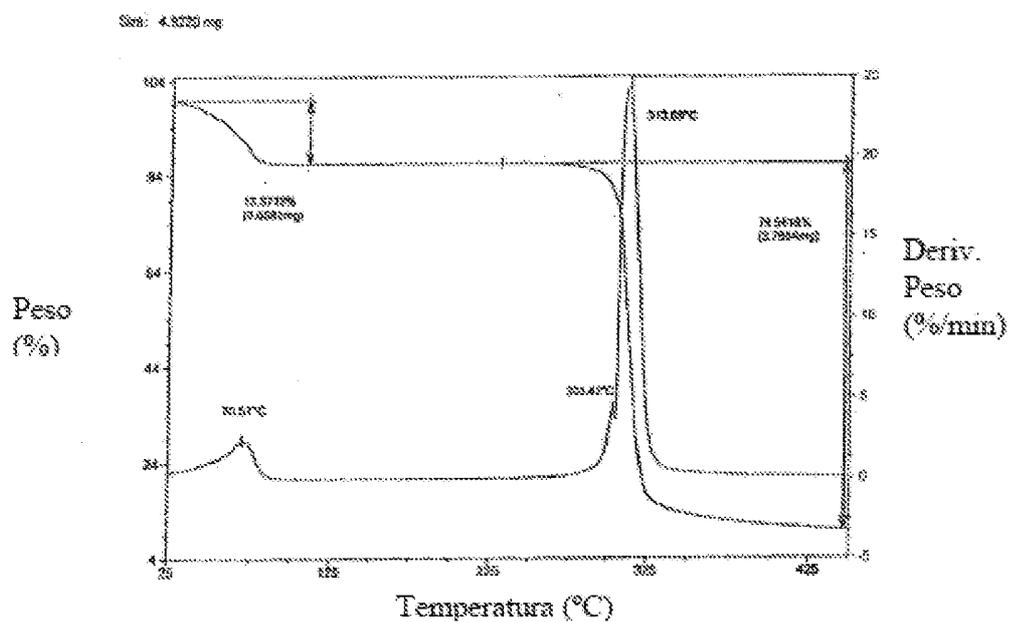


Figura 3

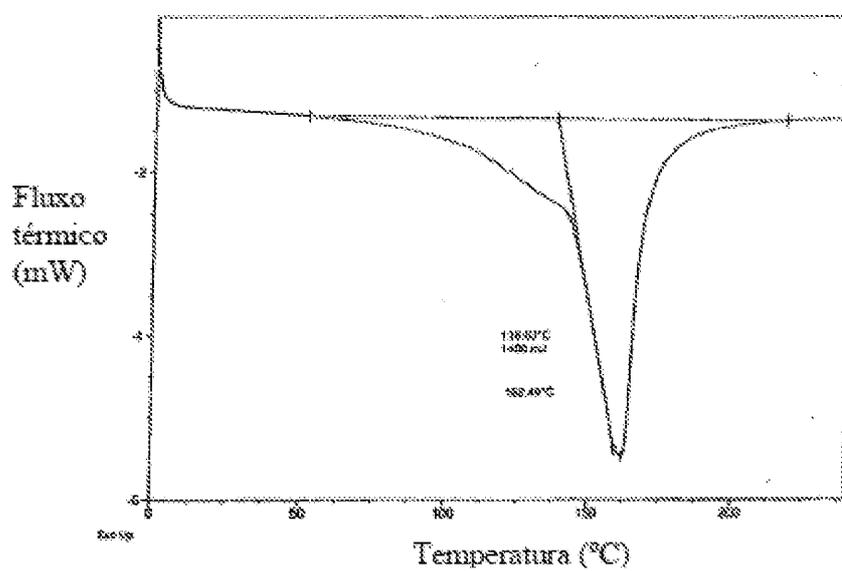


Figura 4

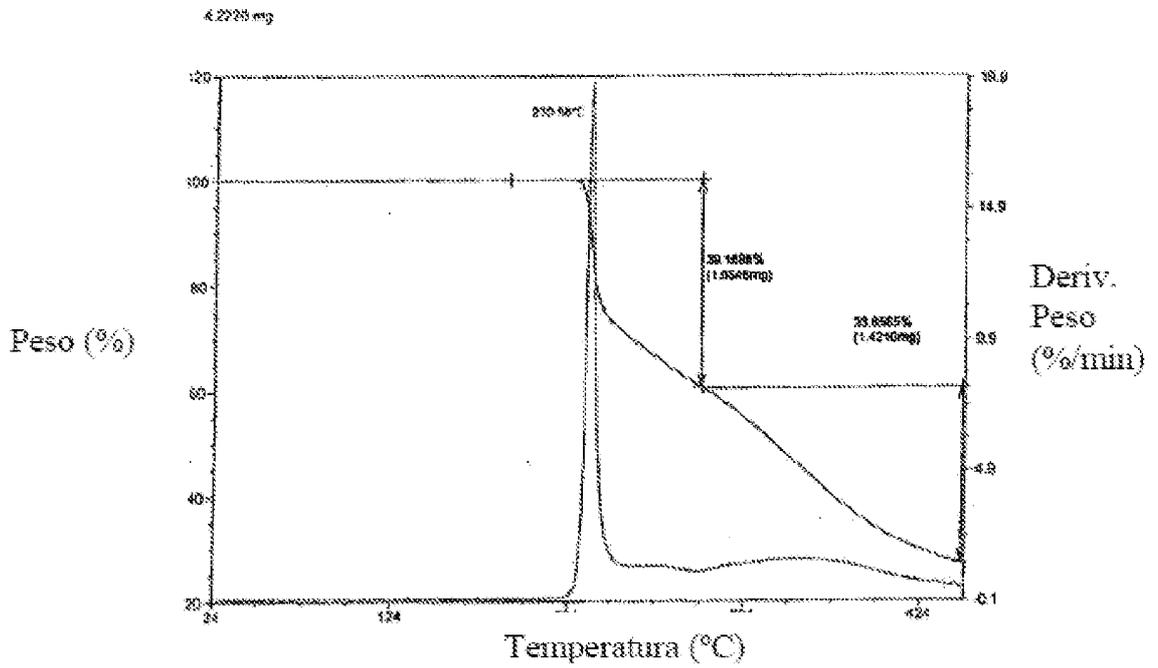


Figura 5

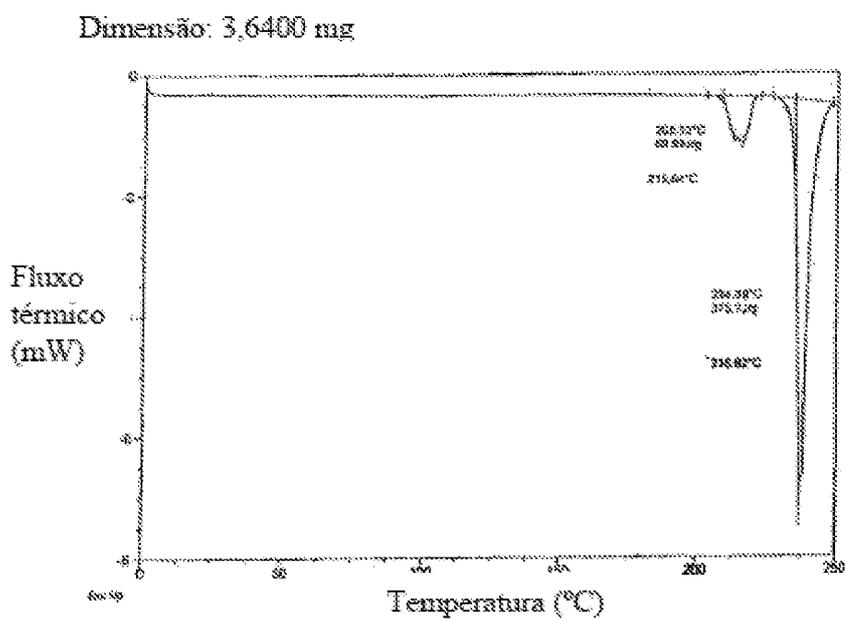


Figura 6

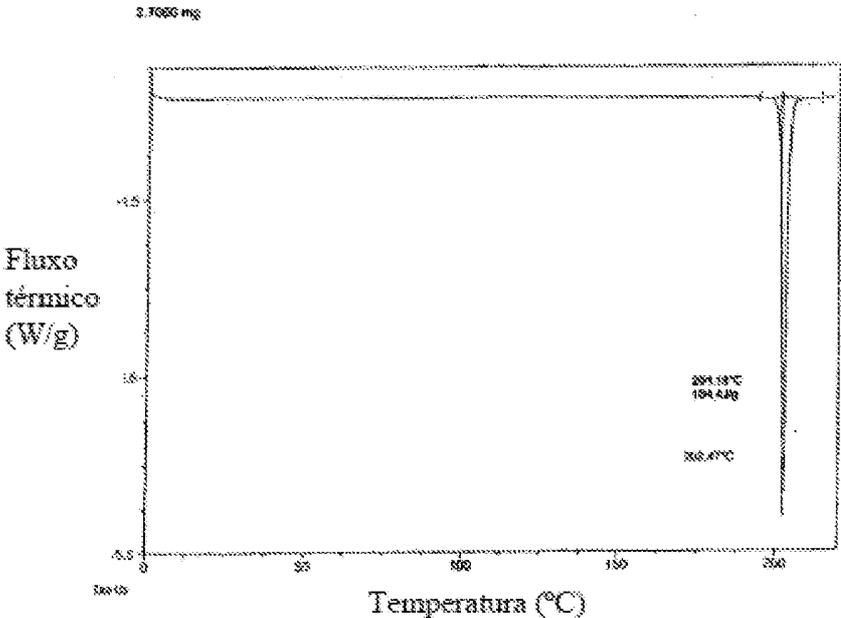


Figura 7

Dimensão: 2,2380 mg

DSC

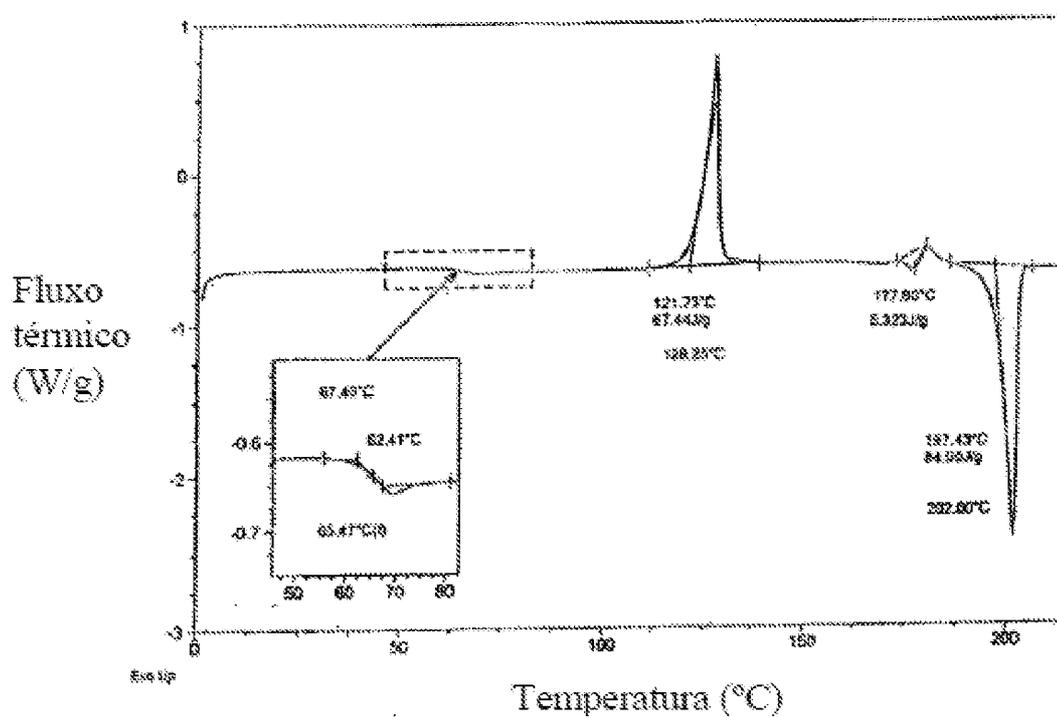


Figura 8

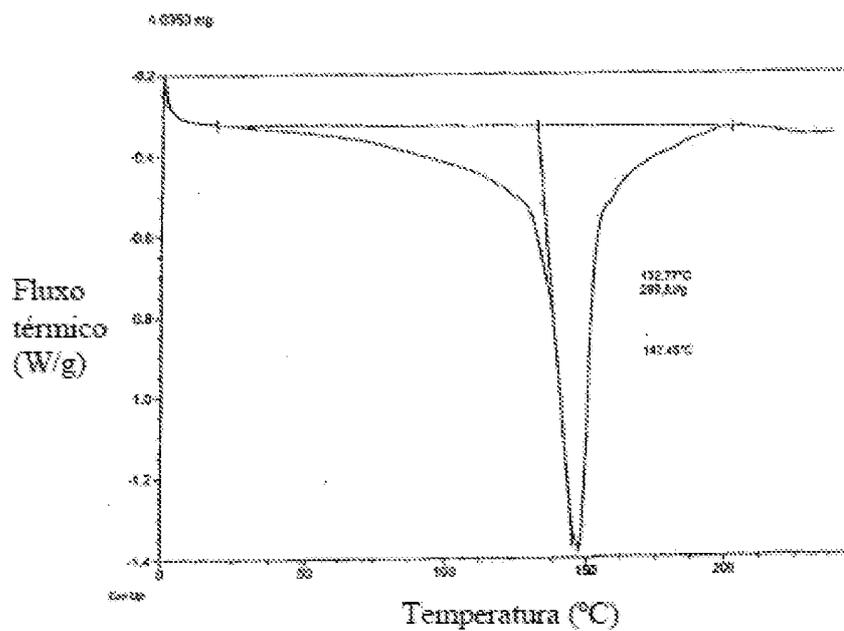


Figura 9

Dimensão: 7,9430 mg TGA

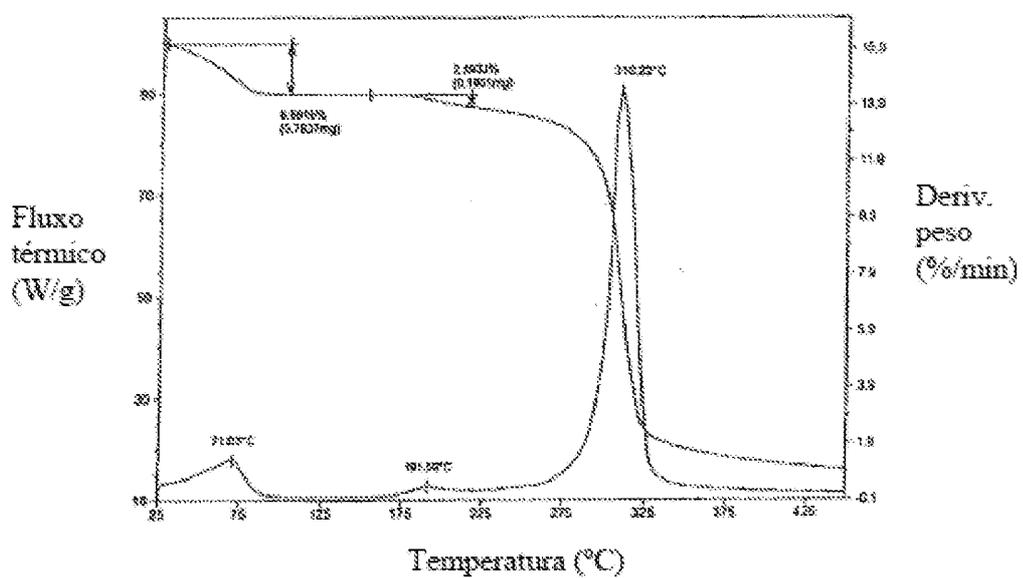


Figura 10

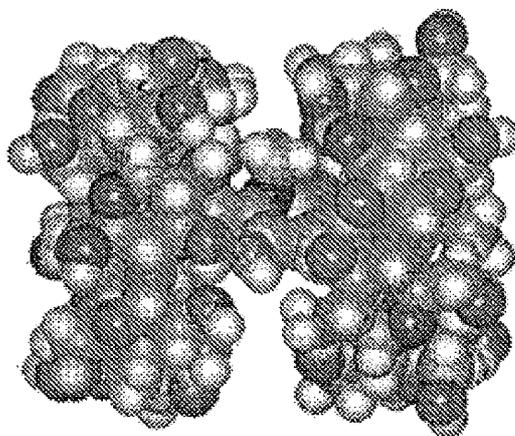


Figura 11

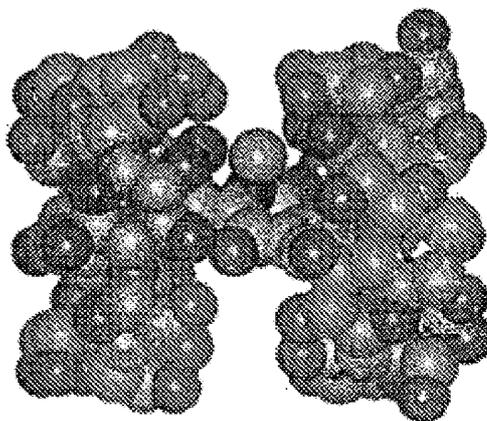


Figura 12

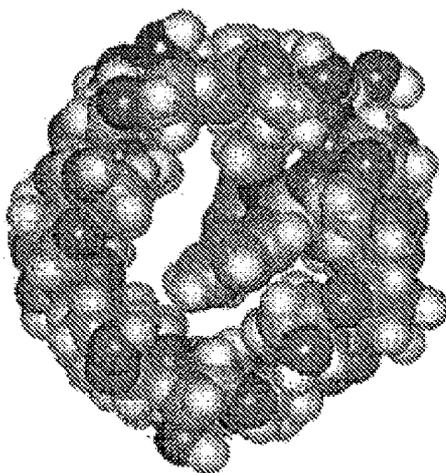


Figura 13

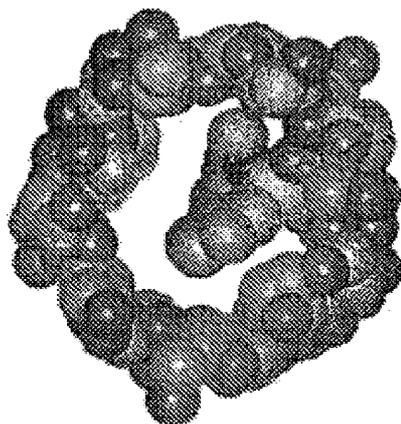


Figura 14

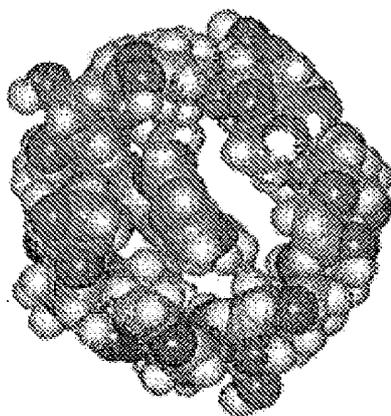


Figura 15

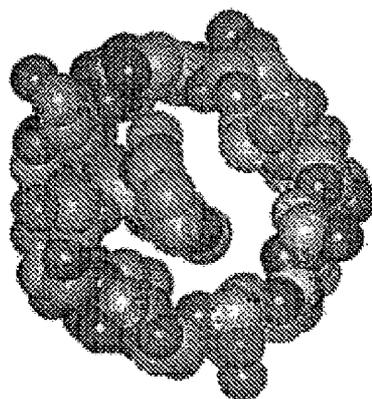


Figura 16

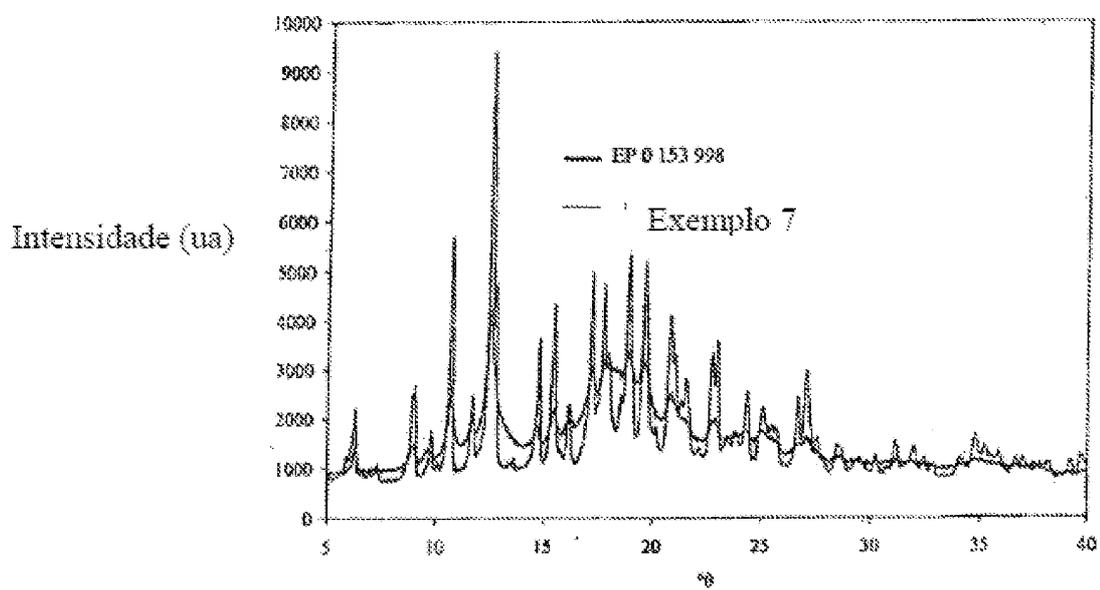


Figura 17

REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento da patente Europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.

Documentos de patentes citadas na Descrição

- WO 03043604 A
- EP 0991407 A
- EP 1018340 A
- EP 0153998 A2
- EP 0153998 A

Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- KAMIHIRA M. et al. *J. of Fermentation and Bioengineering*, 1990, vol. 89, 350-353
- HEES et al. *Pharmaceutical Research*, 1990, vol. 16 (12)
- REDENTI, E. et al. *J. of Pharmaceutical Sciences*, 2000, vol. 89, 1-8
- BUVÁRI-BARCZA et al. *J. of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2002, vol. 42, 209-212
- MURA et al. *J. of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2001, vol. 39, 131-138
- *Int. J. of Pharmaceutics*, 2003, vol. 260, 293-302
- PIEL et al. *J. of Pharmaceutical Sciences*, 1997, vol. 86 (4), 475-480
- *Pharmaceutical Research*, 1999, vol. 16 (12)
- VAN HEES et al. *Journal of inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2002, 271-274
- V. BARILLARO et al. *Proceeding of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids*, 2003, 1897-1902
- WISEMAN et al. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, 1976, vol. 26 (7), 1300-1303
- JON BORDNER. *Acta Cryst.*, 1984, vol. C40, 989-990
- M.R. CAIRA et al. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1984, 1061-1062
- MID-KORBAR. *International Journal of Pharmaceutics*, 1991, vol. 68, 35-41
- G.M. ESCANDAR. *Analyst*, 1999, vol. 124, 587-591