

**MEMÓRIA DESCRITIVA**  
**DA**  
**PATENTE DE INVENÇÃO**

**Nº 93 306**

**NOME:** SANDOZ, S.A., suíça, industrial, com sede em  
Basileia, Suíça

**EPÍGRAFE:** "PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DE  
NAFTALENOMETANAMINA COM ACÇÃO ANTI-INFLAMATORIA  
E DE COMPOSIÇÕES FARMACEUTICAS QUE OS CONTEM"

**INVENTORES:** DR. PHILIP HENRY COOPER, DR. HUBERT MIETH,  
DR. INGEBORG SCHUSTER, DR. ANTON STUETZ  
e DR. FRIEDRICH RICHTER

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

Prioridade na República Federal da Alemanha em 3 de Março  
de 1989 sob o Nº P 39 06 720.3

*W. J. J. J.*

P. I. N° 93 306

MEMORIA DESCRITIVA DO INVENTO

para

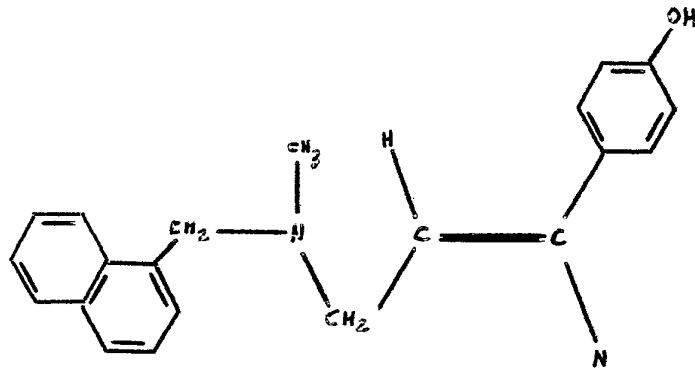
"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE DERIVADOS  
DE NAFTALENOMETANAMINA COM ACCÃO ANTI-  
-INFLAMATÓRIA E DE COMPOSIÇÕES FARMACÓ-  
TICAS QUE OS CONTÊM"

que apresenta

SANDOZ, S.A., suíça industrial, com sede em  
Basileia, Suíça

RESUMO

A invenção refere-se a um processo para a preparação de derivados  
de naftalenometanamina de formula I



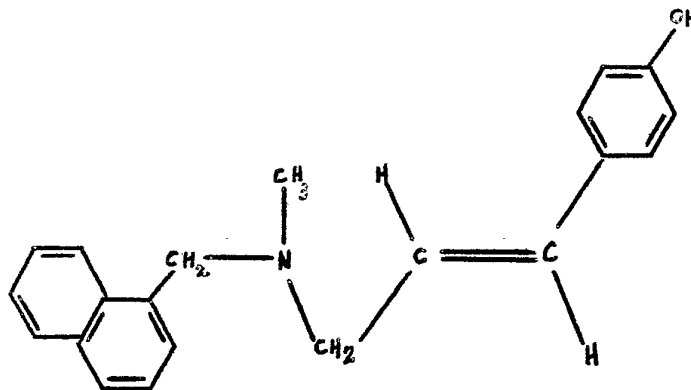
I

*W. J. J. J.*

que compreende a reacção de um composto de formula (I) com um reagente adequado. O composto pode estar na forma de base livre ou de sal de adição de ácido naftaleno-1,5-dissulfonito. O referido composto possui actividade anti-inflamatória. É assim indicado para o tratamento de inflamações, em especial, para uso tópico. Além disso, descobriram-se as formas de sais de adição de ácido solúveis em água que são indicadas para emprego na preparação de, por exemplo composições farmacêuticas em que o composto se encontra presente no estado dissolvido numa fase aquosa.

A. Campo Técnico

A presente invenção está relacionada com o campo dos derivados de naftaleno-metanamina. Ela diz respeito ao uso de compostos de formula I.



isto é, de (E)-N-metil-N- ( 3-(4-hidroxifenil)-2-propenil ) -1-naftalenometanamina ou, em alternativa, de (E)-N-metil-N-(1-naftilmetil)-3-(4-hidroxifenil)-prop-2-en-1-amina, sob a forma de base livre ou de sal de adição de ácido, a partir daqui designados abreviadamente como "o composto da invenção", no tratamento de condições inflamatórias, em particular, no tratamento tópico de doenças inflamatórias da pele; às formas de sais de adição de ácido solúveis em água do composto de fórmula I; e às composições farmacêuticas em que o composto da invenção presente no estado dissolvido numa fase aquosa.

#### B. Estado da Técnica

Um dos objectivos mais importantes na investigação de fármacos dermatológicos é a identificação e o desenvolvimento de princípios activos com efeitos benéficos semelhantes aos dos corticóides mas isentos de efeitos secundários sistémicos e cutâneos dos corticoesteróides. Esses fármacos são apelidados fármacos anti-inflamatórios não-esteróides (NSAID). Os inibidores de ciclo-oxigenase como fármacos clássicos NSAID falharam em dermatologia. O potencial clínico dos inibidores de lipoxigenase, por outro lado, não está ainda provado. Enquanto o bufexamac, isto é, o ácido 2-[p-(n-butiloxi)-fenil -aceto-hidro-xâmico é o único NSAID tópico até à data com uso clínico, a sua eficácia dermatológica tem sido questionada ( R.Trancik & N.J. Lowe, Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs, Eds. Lowe N.J., Hensby, C.N., Karger, Basileia (1989), pág. 136-147 ) . Existe conseqüentemente a necessidade de ter á disposição outros compostos com propriedades anti-inflamatórias distintas, estrutural e mecanicamente não relacionados com os agentes anti-inflamatórios clássicos.

*W. J. ...*

O composto de fórmula I sob a forma de base livre e sob a forma de sal de adição de ácido naftaleno 1,5-disulfônico, a sua preparação e seu uso como agente anti-fúngico são conhecidos a partir de, por exemplo, a Patente Norte Americana Número 4.282.251. Nesta ele está especialmente descrito como o composto Exemplo 16. Pode-se por exemplo, preparar de acordo com o processo d), em analogia com o Exemplo 4 nele descrito, por remoção de água a partir de N-metil-N-(1-naftilmetil)-3-(4-hidroxi-fenil)-propen-3-ol-1-amina. O material de partida pode ser preparado por reacção de N-metil-1-naftalenometanamida com 4-hidroxiacetofenona e redução do N-metil-N-(1-naftilmetil)-3-(4-hidroxi-fenil)-propen-3-ona-1-amina resultante.

#### C. Sumário da Invenção

A requerente descobriu agora que, em adição à sua actividade antimicótica, o composto da invenção possui outras propriedades farmacológicas interessantes e é portanto indicado para outros usos como fármaco. O composto da invenção surpreendentemente satisfaz todos os requisitos para um NSAID e possui um perfil de actividade que é único. Além disso, a Requerente descobriu formas de sais de adição de ácido solúveis em água do composto da invenção a partir das quais se podem preparar novas formas galénicas, por exemplo, composições farmacêuticas em que o composto se encontra presente no estado dissolvido numa fase aquosa.

O composto de fórmula I pode assim encontrar-se sob a forma de base livre ou sob a forma de sal de adição de ácido, por exemplo, de lactato, asconbato ou naftaleno-1,5-disulfonato. As

*W. J. ...*

formas preferidas são a forma de base livre (ponto de fusão 135-137°  
‡) de lactato e ascorbato.

D. Descrição pormenorizada

Abreviatura:

Con A:	Concanavalina A
DAE :	Dimetilacetamida, acetona e etanol (2:4:4:)
DMSO-d <sub>6</sub> :	Sulfoxido de dimetilo deuteriado
FCS :	Soro de feto bovino a 10%
IL :	Interleucina
KGM :	Meio de crescimento de ceratinócito
LPS :	Lipopolissacarido
LTC <sub>4</sub> :	Leucotrieno C <sub>4</sub>
NAP-1 :	Proteína-1 activadora de neutrófilos
NSAID :	Farmaco anti-inflamatório não-esteróide
Pen/strep :	Penicilina/estreptomicina
PGE <sub>2</sub> :	Prostaglandina-E <sub>2</sub>
TNF :	Factor de necrose de tumores-
TFA :	12-O-Tetradecanoilforbol-13-acetato
TXB <sub>2</sub> :	Tromboxano B <sub>2</sub>

*W. J. J. J.*

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

- Figura 1 : Espectro de ressonância magnética nuclear (RMN) em DMSO-d<sub>6</sub> do composto da invenção sob a forma de um sal de lactato de adição de ácido após a formação de sal em água deuteriada ( ver Exemplo 10).
- Figura 2 : Espectro de RMN em DMSO-d<sub>6</sub> do composto da invenção sob a forma de um sal de lactato de adição de ácido após a formação de sal com uma quantidade equimolar de ácido láctico (ver Exemplo 11).
- Figura 3 : Espectro de RMN em DMSO-d<sub>6</sub> do composto da invenção sob a forma de base livre (ver Exemplo 11).
- Figura 4 : Espectro de RMN em DMSO-d<sub>6</sub> do composto da invenção sob a forma de um sal de lactato de adição de ácido após a formação do sal com um excesso de ácido láctico 1,5 molar ( ver Exemplo 12).
- Figura 5 : Fotografia do composto da invenção sob a forma de base livre, antes da microplasmação (lcm=55μ m)
- Figura 6 : Fotografia do material da Figura 5 após a recristalização em etanol/água 1:1 (lcm=55μ m).
- Figura 7 : Fotografia de uma pomada preparada de acordo com o Exemplo 5, mas omitindo a fase b) (cm=55μ m).
- Figura 8 : Fotografia da pomada preparada de acordo com o Exemplo 5 (lcm=55μ m).

*W. F. ...*

ASPECTOS FARMACOLÓGICOS

O composto da invenção:

1. in vitro

- inibe a activação dos macrófagos, como se pode determinar pela libertação do activador de plasminogénio, peróxido de hidrogénio e mediadores relacionados com as prostaglandinas, com concentrações compreendidas no intervalo entre cerca de  $1\mu\text{m}$  a cerca de  $8\mu\text{m}$ ;
- inibe a transcrição induzida por lps de nap-1/il-8,  $\alpha$  tnf e il-1  $\beta$  na linha de células mono-mac 6 semelhantes a macrófagos, com uma concentração de cerca de  $10\mu\text{m}$ ;
- inibe a síntese de pge<sub>2</sub> estimulada por tpa em culturas post-confluentes queratinócitos humanos, com concentrações compreendidas entre cerca de  $1\mu\text{m}$  a cerca de  $3\mu\text{m}$ ;
- reduz drasticamente a acumulação de nap 1/il-8 marn e a libertação de proteína induzida por tgf- $\alpha$ ,  $\alpha$  tnf, il-1  $\alpha$  ou tpa em queratinocitos hacat, com concentrações compreendidas no intervalo entre cerca de  $10\mu\text{m}$  a cerca de  $20\mu\text{m}$ ;

2. in vivo:

- apresenta uma excelente actividade anti-inflamatória em vários modelos de ensaios particularmente depois de aplicação tópica, por exemplo, em modelos de dermatite de contacto irritante, no modelo do eritema provocado por UV e



*W. J. J. J.*

no modelo de dermatite de contacto alérgica, com concentrações compreendidas entre cerca de 1% e cerca de 5%.

Em contraste, o composto da invenção não inibe, ou inibe apenas numa pequena extensão, funções representativas de

- neutrófilos : A  $CI_{50}$  para a libertação estimulada por FMLP de grânulos específicos, grânulos azurófilos e enzimas lisossómicas no ensaio de exocitose de neutrófilos e para a libertação de super-óxido estimulada por zimosano a partir de neutrófilos humanos é superior a  $100 \mu M$ ; para a 5-lipoxigenase, 5,12-lipoxigenase e 12+15-lipoxigenase é de  $44 \mu M$ ,  $55 \mu M$  e, respectivamente,  $100 \mu M$ ;
- plaquetas : A  $CI_{50}$  para a libertação estimulada por trombina da serotonina e de N-glucosaminidase a partir de plaquetas de bovino é de cerca de  $100 \mu M$  e para a produção de tromboxano  $B_2$  é de  $100 \mu M$ ;
- células mestras : A  $CI_{50}$  para a libertação de histamine e  $\beta$ -glucosaminidase estimulada pela polimixina é de cerca de  $100 \mu M$ .

A ciclo-oxigenase (sintetase de prostaglandinas) não é inibida a  $100 \mu M$  e o composto não pertence conseqüentemente à família dos inibidores da ciclo-oxigenase. Os efeitos observados não são provocados pela cito toxicidade pois a libertação do lactato desidrogenase é inferior a 10%.

Os processos de ensaio anteriores e os seus resultados são descritos na presente memória com mais detalhe (em todos os ensaios

*W. J. J. J.*

farmacológicos, o composto da invenção é usado sob a forma de base livre; em todos os ensaios "in vitro" o composto é dissolvido em sulfóxido de dimetilo a uma concentração de  $10^{-2}$  M a não ser que se indique outra concentração.

1. ENSAIOS IN VITRO

1.1. Inibição de activação de macrófagos

1.1.1. Inibição da libertação do activador de plasminogenio estimulada por Con-A

Macrófagos com a idade de 10 a 14 dias isolados a partir de medula óssea de ratos são incubados em monocamadas com o composto ensaiado em presença de Concanavaline A (Con A) ( $100 \mu\text{g/ml}$ ) como estimulante solúvel. Vinte e quatro horas depois, colecta-se o meio isento de células e a activação macrófaga é investigada por processos bioquímicos em termos de libertação do agente activador de plasminogénio, ensaiado fotometricamente como a amidólise de D-Val-Phe-Lys-4-nitroanilida dependente de plasminogénio de acordo com os princípios descritos em J.C. Drapier et al., Biochemie 61 (1979) 463-471. A viabilidade das células é ensaiada por meio de medição de libertação de lactato desidrogenase de acordo com o processo de H.U. Bergmeyer e E. Bernt, Methoden der Enzymatischen Analyse, 3ª. Edição, Verlag Chemie (1974) 612-615, adoptado como um ensaio cinético usando placas de microtitulação. Todas as culturas são observadas microscopicamente para detectar as modificações morfológicas qualitativas.

*W. J. J. J.*

O composto da invenção possui uma  $GI_{50}$  igual a  $1,8 \mu M$  de acordo com este ensaio.

1.1.2. Libertação de peróxido de hidrogénio estimulada por zimosano

A produção de peróxido de hidrogénio é usada como uma medida para a eclosão respiratória de células fagocíticas. Macrófagos com a idade de 10 a 14 dias isolados a partir de medula óssea de ratos são incubados durante 10 a 30 minutos em presença do composto a ensaiar. Adiciona-se então 0,5 ml de zimosano como estimulante fagocítico e incuba-se a mistura durante mais 2 horas a  $37^{\circ}C$  em presença de ácido homovalínico (0,5 ml,  $400 \mu M$ ) e de rabanete peroxidase de cavalo (4U/ml). A reacção é interrompida pela adição de 0,25 ml de tampão de glicina/NaOH 0,1 M de pH 12, que compreende HNEA 25 mM, as amostras são centrifugadas a 2200 g durante 10 minutos, e o produto de oxidação do ácido homovalínico foi medido fluorimetricamente como medida de quantidade de  $H_2O_2$  produzido.

Neste ensaio, o composto da invenção possui uma  $GI_{50}$   $2,1 \mu M$ .

1.1.3. Libertação de tromboxano  $E_2$  prostaglandinas  $E_2$  ( $PGH_2$ ) e leucotrienos  $G_4$  ( $LTC_4$ ) ( $TXB_2$ ) induzida pelo zimosano

O composto a ensaiar é adicionado em várias concentrações a monocamadas de macrófagos peritoneais de ratos  $CF_1$  isolados de acordo com o processo descrito por J. Schnyder e G. Baggiolini, J. Exp. med. **148**. (1978) 435-450. Introduz-se 0,5 ml de suspensão que compreende  $1,2 \times 10^6$  células/ml de DMEM (meio de Eagle modificado por Dubelcco, aminoáci-

*W. J. J. J.*

dos, não essenciais, L-glutamina 2 mM, penicilina/estreptomina 100U/ml) contendo 2% de soro de feto de bovino inativado por aquecimento e 20 U de heparina/ml, em cada reentrância de placas de 24 reentrâncias (diâmetro 1,6 cm) e deixou-se aderir a 37°C durante 2 horas em 5% de CO<sub>2</sub>/ar. As monocamadas são então lavadas com PBS e depois adicionou-se 0,5 ml de DMEM contendo soro de feto de bovino inativado por aquecimento. Adicionam-se varias concentrações da substância a ensaiar no mesmo meio contendo uma concentração final maxima de 1% em DMSO), sendo o volume final igual a 0,98 ml e depois de 10 minutos a 37°C, as células são estimuladas por adição de 20 µl de uma diluição de partículas de zimosano a 1-20 volume/volume (Sigma Chemie, Deisenhofen, República Federal da Alemanha) em 50 mg/ml de PBS. Depois de duas horas a 37°C, o meio é retirado, centrifugado a 1300 g durante 5 minutos e decantado. As células são lisadas com 1 ml de digitonina a 0,01%. Os sobrenadantes são analisados por meio de técnicas de radio-imunoensaio relativamente aos teores de tromboxano B<sub>2</sub>, prostaglandina E<sub>2</sub> e leucotrieno C<sub>4</sub>. As actividades de lactato desidrogenase no meio e nos lisatos das células são também medidas servindo como uma indicação de toxicidade de célula.

Neste ensaio, o composto da invenção possui uma CI<sub>50</sub> igual a 6,0 µM para TXB<sub>2</sub>, 1,5 µM para PGE<sub>2</sub> e 8,0 µM para LTC<sub>4</sub>.

1.1.4. Libertação de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) induzida por TPA

Células do exsudado peritoneal de ratos NMRI (estirpe NMRI) previamente tratado com 1,5 de tioglicolato intraperitonealmente durante 3 dias anteriores são recolhidas por lavagem peritoneal, lavadas com uma solução salina de fosfato temporizada (PBS isento de Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup>) e ressuspen-

*W. J. J. J.*

sas num meio de DMEM suplementado com soro de feto de bovino a 10% (FCS).  $1 \times 10^6$  células em 1 ml são colocadas em recêntricas de placas de cultura de tecidos Costar-24 e deixa-se aderir as células durante 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$  e  $\text{CO}_2$  a 5%. As células são então lavadas duas vezes com PBS e parte restante constituída por população de macrófagos a mais do que 95% de pureza, são estimuladas com 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) (20 ng/ml, 1h) num meio de DMEM isento de FCS. Os meios condicionados são centrifugados e os níveis de  $\text{PGE}_2$  são determinados usando um rádio-imunensaio com  $^3\text{H}$ . As amostras são ensaiadas em duplicado. A inibição da libertação de  $\text{PGE}_2$  produzida pelos compostos ensaiados é calculada como inibição percentual em comparação com os controlos. A  $\text{CI}_{50}$  para a inibição encontrada neste ensaio com o composto da invenção é de 1 a  $3 \mu\text{M}$ .

1.2. Acumulação de MAP1/IL-8,  $\alpha$  TNF- e IL-1  $\beta$ -mRNA em células humanas de linha Mono-Mac-6, induzida por LPS.

Células humanas Mono-Mac-6, que possuem muitas características funcionais e fenotípicas dos monócitos sanguíneos periféricos maduros (H. Ziegler et al, Int. J. Cancer 41 (1988) 456-461) são desenvolvidos até à obtenção de  $10^6$  células/ml num meio de RPMI 1640 suplementado com FCS a 10%, pen/strep a 1% e anfotericina a 0,25%. Em cada uma das 6 experiências de activação incubam-se  $10^7$  células durante 4 horas a  $37^{\circ}\text{C}$  e  $\text{CO}_2$  a 5%

É usado LPS numa concentração de  $1 \mu\text{g/ml}$  e a substância de ensaio é usada em concentrações compreendidas no intervalo entre  $10^{-5}\text{M}$  e  $10^{-7}\text{M}$ .

Análise de formação de mancha de ARN

Depois de decorridos os tempos de indução, as células foram peletizadas (5 minutos, 1200 rpm, temperatura ambiente) . O ARN celular total foi extraído a partir das células peletizadas usando o método do isotiocianato de guanidínio/cloreto de cézio, de J.M. Chirgwin et al., Biochemistry 18 (1979) 5294-5299. Amostras de 10<sup>4</sup>g do ARN extraído são fraccionadas por tamanhos por meio de electroforese em gel de agarose-formaldeído a 1,2 % (T.Maniatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbour, Nova Iorque (1982) pag. 187-206), transferidas para membranas sintéticas (Hybond N, Amersham) com 20xSSC (1xSSC é NaCl 150 mM, citrato de sodio 15 mM, pH 7,0) durante a noite. Os filtros são aquecidos a 65°C durante 2 horas e pré-hibridizados durante 4 horas a 65°C em 5xSSC uma solução de Denhardt 10x (solução de Denhardt 1x é constituída por albumina de soro de bovino a 0,02%, polivinil-pirrolidona a 0,02% e ficol a 0,02%) sulfato de dextrano a 10%, fosfato de sódio 20 mM pH 7,0, SDS a 0,7%, 100 µg/ml de ADN de esperma de salmão tratado por ultrassons e 100 µg/ml de poly A. Usam-se amostras de NAP1/IL-8 sintético marcadas com <sup>32</sup>P, TNE e oligonucleótidos IL-1 com as amostras de hibridização. Efectua-se a hibridização a 65°C notapão de pré-hibridização contendo a amostra marcada durante 16 horas. As manchas são lavadas uma vez com SDS a 5%, 3xSSC, 10x solução de Denhardt, fosfato de sódio 20 mM pH 7,0 durante 30 minutos a 65°C e uma vez em 1xSSC, SDS a 1%, a 65°C durante 30 minutos. Os filtros são expostos à temperatura de -70°C, em películas Kodak xAr-5 usando écrans de intensificação. Após lavagem durante 30 minutos em SDS 0,1% a 65°C, as manchas são novamente usadas para uma segunda hibridização com uma amostra de oligonucleotideo específico da β-actina para quantificar as quantidades de mRNA.

*W. J. J. J.*

Neste ensaio o composto da invenção diminui a acumulação de TNF- $\alpha$ , de IL-1 $\beta$  e de IL-6 induzida por LPS para 20, 10 e 50%, respectivamente, a uma concentração de 10,0  $\mu$  M.

1.3. Inibição da síntese de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) estimuladas por TPA de queratinócitos humanos

São obtidas culturas de queratinócitos humanos por tripsinização de prepúcio humanos neonatais. As culturas de queratinócitos desenvolvem-se num meio de crescimento de queratinócitos suplementado (KGM; Clonetics) usando balões de cultura. Os materiais das passagens 3 a 5 de queratinócitos de 50 a 90% confluentes são ressuspensos em MEM a uma concentração de  $1 \times 10^5$  células e amostras com 0,1 ml são colocadas em placas de 96 recêntricas de microtitulação em presença do composto a ensaiar. Para estimular a libertação de PGE<sub>2</sub> por queratinócitos humanos ou linha de células de queratinócitos da pele humana HAGEP (P. Foukamp et al., J. Cell Biol. 106 (1993) 761-771) são desenvolvidas até à confluência num meio MEM e estimuladas com TPA (10% ng/ml) durante 24 horas. Os meios condicionados são centrifugados e determinam-se as concentrações de PGE<sub>2</sub> usando um rádio-imunoensaio com <sup>125</sup>I (NEN, Boston, Mass.). Cada amostra é ensaiada em duplicado.

Neste ensaio, o composto da invenção inibe a síntese de PGE<sub>2</sub> a um CI<sub>50</sub> de cerca de 1  $\mu$  M a 3  $\mu$  M.

1.4. Modulação da expressão de genes de queratinócitos e libertação de proteínas TNF- $\alpha$ /IL-6

A linha de células HAGEP desenvolve-se em balões de cultura

*W. J. J. J.*

de 200 ml num meio de KBM (Clonetics) 0,06 mM de Ca até à confluência de 50%. Posteriormente, as células são enfraquecidas em meio de KBM (Clonetics) durante 2 dias. As células pré-confluentes resultantes são então estimuladas com  $\alpha$  TNF (Genzyme, 500 ou 1000 U/ml) ou com IL-1  $\alpha$  (Boehringer, 200 U/ml) obtidas a partir de soluções de armazenagem e posteriormente diluídas num meio de KBM com as diluições indicadas em presença da substância ensaiada. No fim do periodo de incubação, o ARN celular total é extraído como acima foi descrito em 1.1.5. Submetem-se 20  $\mu$ g de ARN à acção de geles agarose-formaldeído a 1% e são transferidos para filtros de N hybond (Amershan) numa transferência capilar usando 20xSSC. Os filtros são então aquecidos durante duas horas e pré-hibridizados durante 4 horas. A hibridização (16 horas) e a lavagem realizam-se a 65°C usando amostras de oligonucleótidos para NAP1/IL-8. Para controlo, manchas são re-hibridizadas com uma amostra de actina (Oncor). As concentrações de NAP1/IL-8 nos sobrenadantes das culturas de queratinócitos são determinadas usando um ensaio de ELISA, de ligando duplo em fase sólida.

Neste ensaio o composto da invenção diminui a acumulação de mARN NAP1/IL-8 induzida por  $\alpha$  TNF para 60% a uma concentração 20,0  $\mu$  M e inibe a libertação de NAP1/IL-8 estimulado por IL-1  $\alpha$  em 90% e, respectivamente, 40% a uma concentração de 10,0  $\mu$  M.



*W. J. Young*

2. ENSAIOS IN VIVO

2.1. Modelos de dermatite de contacto Irritante

2.1.1. Inibição do inchaço do pavilhão do ouvido induzido por ácido araquidónico ou por cantaridina no rato

A irritação da pele com ácido araquidónico ou cantaridina é frequentemente usada para induzir experimentalmente inflamação a fim de se avaliar a actividade anti-inflamatória de um composto. (Ver por exemplo Inflammation 8 (1984) 134-135; 10 (1986) 205-214).

Ratos WRI (8 animais por grupo) recebem 10  $\mu$  l de uma solução de ácido araquidónico a 10% . (J.W. Young et al., J. Invest. Derm. 82 (1986) 367-371) em acetona ou respectivamente cantaridina a 0,08% (R.S. Stragle et al., Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 254 (1981) 168-176) em acetona aplicada na superfície média e lateral do ouvido externo direito. O tratamento realiza-se ou profilacticamente (30 minutos antes de irritação) (ácido araquidónico), ou respectivamente, simultaneamente com a aplicação da solução irritante ou terapêuticamente 20 minutos depois da irritação (cantaridina) por meio de uma única aplicação epicutânea do composto a ensaiar dissolvido numa mistura de N, N-dimetilacetamida, acetona e álcool (2:2:4:). A avaliação do grupo de ensaio é efectuada por comparação com um grupo de controlo de animais que tinham recebido no lóbulo da orelha direita apenas a substância veicular ou a solução irritante. Os animais são mortos 1,5 horas (ácido araquidónico) ou, respectivamente 17 horas (cantaridina) após a aplicação do irritante e a eficácia é avaliada pela determinação das diferenças de peso do ouvido. As diferenças de pesos (D) do pavilhão da orelha direita (envolvida) e esquerda (não envolvida) dos animais tratados com o composto de ensaio e ácido araquidónico ou cantaridina (grupo T), foram comparadas com as diferenças obtidas nos ratos tratados com apenas ácido araquidónico ou apenas com cantaridina (grupo C). A

W. J. J. J.

eficácia (%) é calculada de acordo com a equação :

$$\text{Eficácia } \% = \frac{100 \times (D_o - D_f)}{D_o}$$

2.1.2. Inibição do inchamento do pavilhão auricular em ratos induzida por EPA ou óleo de cróton

Este modelo é semelhante ao anterior (ver 2.1.1.). A inflamação é provocada 15  $\mu$ l de óleo de cróton a 0,23% numa mistura de dimetilacetamida, acetona e etanol (2:4:4:), ou com 10  $\mu$ l de EPA a 0,005% (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato; Sigma) preparado em acetona com 0,5% de sulfóxido de dimetilo. O tratamento tópico é realizado ou simultaneamente com a irritação (óleo de cróton) ou 20 minutos após a aplicação (EPA). O composto ensaiado é preparado em D.M.S. A eficácia é avaliada 6 horas depois do início da irritação pela determinação do peso auricular tal como já se descreveu anteriormente.

2.2. Modelo de eritema provocado por UV

Foram usadas cobaias de sexo feminino pesando entre 250 g e 300 g. No dia anterior à experiência, foram tosquiadas em ambos os flancos e depois rapadas à navalha sem se produzir irritação na pele duas horas antes de exposição aos UV. Duas áreas circulares (diâmetro 10 mm) em cada flanco são expostas durante 10 segundos a raios ultravioleta de comprimento de onda entre 250 a 500 nm com uma intensidade de 16 mW/cm<sup>2</sup> (UVA) e de 500 mW/cm<sup>2</sup> (UVB). Os fármacos foram administrados tópicamente imediatamente após a exposição à luz UV num volume de 50  $\mu$ l de etanol a 25% e polietilenglicol-400 a 75% nas áreas de pele irradiadas do flanco direito. Duas áreas do flanco esquerdo servem como controlo veicular.

O eritema é visualmente avaliado após 3,5 e 5,5 horas de irradiação e os resultados foram expressos em valores numéricos. As alterações

da intensidade do eritema após a administração dos fármacos são expressas como percentagem de intensidade da mancha do eritema nas áreas tratadas apenas com a substância veicular.

### 2.3. Modelo de dermatite de contacto alérgica

A inibição de dermatite de contacto alérgica provocado por oxazolona é determinada em ratos. Ratos WRI do sexo feminino com 5 semanas de idade (8 por grupo) são sensibilizados com 10 $\mu$ l de oxazolona a 2% (P.J. Dietrich e R. Hess. Int. Arch. Allergy 38 (1970) 246 - 259) que se aplicou na região ventral do abdómen tosquida. A reacção de estudo é provocada 7 dias depois da aplicação de 10 $\mu$ l de oxazolona a 2% no pavilhão auricular. A aplicação tóptica do composto de ensaio (dissolvido em DMS) é realizada duas vezes, 20 minutos e duas horas depois de se provocar a reacção. 24 horas depois de se provocar a reacção da pele, a inibição da dermatite de contacto relacionada com o tratamento de pele é avaliada por medição do peso do pavilhão auricular tal como se descreveu em 2.1.1.

Obtêm-se os seguintes resultados nos ensaios "in vivo" acima mencionados

*Werner*

Ensaio	Agente irritante ou alergénio	Modo de tratamento	Concentração de ensaio (%)	Composto da invenção	EFICÁCIA	
					Bufexamac	
Dermatite de contacto (2.1.1.)	Acido araquidonico	Eprofilactico	1,2	33 00	35 0	
Dermatite de contacto (2.1.1.)	Cantaridina	Simultâneo	1,2 3,6	26 00 52 00	36 29	
		Terapêutico	1,2 3,6	25 00 50 00	22 14	
Dermatite de contacto (2.1.2.)	Oleo de Croton	Simultâneos	1,2 3,6	67 00 81 00	11 36 00	
Dermatite de contacto (2.1.2.)	TFA	Terapêutico	1,2 3,6	51 00 60 000	1 2	
Eritema provo cado por UV (2.2.)		Terapêutico	5,0	27	8	
Dermatite de contacto (2.3.)	Oxazolone	Terapêutico	3,6	42 00	0	
		0	P	0,05		sem actividade
		00	P	0,01		
		000	P	0,001		

*W. J. J. J.*

Tal como se pode observar na tabela anterior, enquanto os dados obtidos *in vitro* indicam um perfil único de actividade do composto da invenção, "in vivo" o composto da invenção não é apenas altamente activo mas também claramente superior ao bufexamac, o único composto não esteróidecorrentemente disponível para o tratamento tópico de doenças inflamatórias da pele.

#### RESULTADOS CLÍNICOS

Um ensaio clínico do composto da invenção é realizado procedendo como se descreve seguidamente.

O ensaio é conduzido usando um grupo de voluntários (homens e mulheres de peso corporel médio) identificados como sofrendo de inflamação dérmica. Os indivíduos escolhidos são principalmente seleccionados entre aqueles que já sofrem desta doença há muito tempo e que não respondem à terapia convencional. Cada indivíduo recebe uma composição de acordo com a invenção, por exemplo, um creme a 1%. A composição foi aplicada tópicamente num sítio de lesão inflamatória numa quantidade compreendida dentro do intervalo de cerca de 0,005 g/cm<sup>2</sup> a cerca de 0,05 g/cm<sup>2</sup>. A aplicação realiza-se 1, 2 ou 3 vezes por dia em função da extensão da lesão. O tratamento é continuado em cada indivíduo durante um período total de pelo menos 2 semanas. O tratamento alternativo é interrompido antes e durante o tratamento tópico com o composto da invenção. Cada indivíduo é submetido a um exame prévio dermatológico completo antes do início do tratamento para determinar a extensão, posição e gravidade das lesões inflamatórias. Cada indivíduo é também interrogado a fim de expressar a sua experiência subjectiva sobre a doença. O exame médico é repetido com intervalos semanais e novamente no final do tratamento e são registadas todas as alterações

*W. J. ...*

das condições. No final do tratamento, cada indivíduo é novamente interrogado para expressar a experiência subjectiva sobre a doença. Todas as alterações das condições dos indivíduos, particularmente a extensão e a intensidade da lesão bem como os seus efeitos secundários são registados. Os resultados obtidos por administração da composição de acordo com a invenção são comparados com os obtidos com um grupo de controlo que recebeu uma composição de placebo que não compreendia o composto da invenção. Os resultados obtidos demonstram uma redução acentuada da inflamação nos indivíduos que receberam composições de acordo com a invenção, administradas tal como se descreveu, em comparação com os grupos de controlo que receberam o placebo. As composições de acordo com a invenção que foram ensaiadas revelaram ser bem toleradas.

O composto da invenção é consequentemente indicado para uso como um agente anti-inflamatório. É particularmente indicado para uso como um anti-inflamatório dérmico, especialmente para o tratamento de condições inflamatórias de etiologia micótica ou, de preferência de etiologia não-micótica, especialmente de doenças de pele inflamatórias tais como as várias formas de eczema, dermatites, dermatites de contacto alérgicas e eritema provocado por UV. O composto da invenção é de preferência indicado no tratamento de eczemas

O tratamento particularmente preferido é o tópico.

O composto da invenção pode ser usado sob a forma de base livre ou sob a forma de um sal de adição de ácido farmacologicamente aceitável.

Para as indicações anteriores, a dosagem apropriada será evidentemente variável em função, por exemplo, do paciente, do modo de administração e da natureza e gravidade da condição a ser tratada.

*W. J. ...*

No entanto, em geral, são obtidos resultados satisfatórios por exemplo por uso tópico com administração local do ingrediente activo a uma concentração compreendida no intervalo entre cerca de 0,05% em peso e cerca de 5% em peso, de preferência, entre cerca de 1% em peso e cerca de 5% em peso e especialmente no intervalo compreendido entre cerca de 1% em peso e cerca de 3% em peso, várias vezes ao dia, por exemplo 2 a 5 vezes ao dia.

São exemplos de composições farmacêuticas indicadas para uso tópico loções, geles, pomadas, pastas e cremes, particularmente, geles e cremes.

#### ASPECTOS GALÉNICOS

A invenção inclui portanto também composições farmacêuticas adequadas como anti-inflamatórios, de preferência, de uso tópico, compreendendo o composto da invenção em associação com pelo menos uma substância veicular ou diluente farmacêuticamente aceitável.

A invenção inclui também composições farmacêuticas que compreendem o composto da invenção em associação com pelo menos uma substância veicular ou um diluente farmacêuticamente aceitável, para uso no tratamento, de preferência tópico, de inflamações.

Tais composições podem ser preparadas por mistura com uma substância veicular ou um diluente farmacêuticamente aceitável. As formas de dosagem unitárias compreendem, por exemplo, entre cerca de 0,0025 mg e cerca de 50 mg do ingrediente activo. A invenção inclui também portanto um processo para a preparação de uma composição farmacêutica adequada para uso anti-inflamatório compreendendo misturar-se o composto da invenção com uma substância veicular ou diluente farmacêuticamente aceitáveis.

Algumas composições farmacêuticas podem ser fabricadas de

- forma convencional, por exemplo, para aplicações tópicas,
- a) - Como um sistema de suspensão em duas fases em que o composto da invenção está presente pelo menos num estado parcialmente não dissolvido em fase aquosa, por exemplo, como um gel tal como se refere mais abaixo no Exemplo 1;
  - b) - Como um sistema de suspensão em duas fases em que o composto está presente num meio de suporte exclusivamente orgânico num estado pelo menos parcialmente não dissolvido, por exemplo, como uma pomada como se descreve abaixo no Exemplo 2;  
ou
  - c) - Como um sistema em que o composto está dissolvido num meio de suporte orgânico, por exemplo, como uma pomada, tal como se refere nos Exemplos 3 e 4, abaixo descritos;

Os compostos da invenção, no entanto, possuem propriedades físico-químicas invulgares, especialmente, pequena solubilidade em água e óleos; isso torna difícil a preparação de formas galénicas em geral e de formas galénicas em particular em que o composto está dissolvido num meio de suporte.

Assim a preparação de formas galénicas tópicas escolhidas para os compostos de alilamina estruturalmente relacionados tais como naftifina (Exoderil<sup>®</sup>) e terbinafina (Laminil<sup>®</sup>), nomeadamente de sistemas de emulsão com duas fases em que o composto está presente em estado dissolvido na fase orgânica, incluindo loções, geles e cremes, não é aplicada ao composto da presente invenção. Estas formas galénicas tópicas são preparadas começando a partir de um sal de adição de ácido da alilamina em suspensão na fase aquosa de um sistema bifásico e, através da adição de uma quantidade equimolar de uma base tal como hidróxido de sódio, o composto é solubilizado sob a forma de base livre na fase oleosa. Com o composto da invenção, embora a forma de base livre seja cristalina, esta não é suficientemente solu-



*W. J. J. J.*

vel em qualquer das duas fases do sistema bifásico e cristaliza portanto após arrefecimento.

As composições farmacêuticas preparadas da forma convencional podem conseqüentemente possuir geralmente propriedades indesejáveis tais como baixa ressorção e biodisponibilidade incerta; além disso, quando o composto está presente no estado não dissolvido, observou-se que forma cristais particularmente grandes, com a forma de agulhas com cerca de  $100\mu$  m a cerca de  $300\mu$  m de comprimento médio (ver Figura 7). Assim as aplicações tópicos são normalmente acompanhadas por desconforto, incluindo possível irritação da pele.

Descobriu-se agora que, surpreendentemente, estas dificuldades podem ser ultrapassadas, por exemplo, usando uma forma de uma composição farmacêutica em que o composto da invenção está presente no estado dissolvido numa fase aquosa, por exemplo, num sistema de hidrogel monofásico como por exemplo se descreve no Exemplo 9 ou num sistema de emulsão bifásico como por exemplo nos Exemplos 5 a 9, abaixo descritos.

Entre as composições farmacêuticas que fazem parte do âmbito desta invenção, a invenção inclui portanto especialmente composições farmacêuticas em que o composto da invenção está presente no estado dissolvido numa fase aquosa, conjuntamente com pelo menos uma substância veicular ou um diluente farmacêuticamente aceitáveis, em particular, um hidrogel monofásico e sistemas de emulsão bifásicos em que o composto está na fase aquosa, por exemplo, loções, geles e cremes. Tais composições, por exemplo nos Exemplos 5 a 9 abaixo descritos, são particularmente indicadas para uso tópico.

Nas composições farmacêuticas acima definidas, o composto da invenção está dissolvido na fase aquosa sob a forma de sal de adição de ácido (ver abaixo), preferivelmente, lactato ou ascorbato, especialmente, o lactato.

*W. J. ...*

As correspondentes composições farmacêuticas em que o composto da invenção está presente no estado dissolvido numa fase aquosa incluem de preferência para uso tópico entre cerca de 1% e cerca de 5% em peso do composto, expresso com base na forma de base livre e uma quantidade de reagente para a formação de sais solúveis em água que constitui desde cerca de 1/2 a cerca de quatro quintos daquela quantidade em peso; incluem por exemplo cerca de 1% em peso do composto da invenção conjuntamente com uma mistura de cerca de 0,5% em peso de ácido láctico e cerca de 0,1% em peso de ácido ascórbico ou conjuntamente com cerca de 0,5% em peso de ácido láctico ou ascórbico.

As composições farmacêuticas que incorporam o composto da invenção sob a forma de sal de adição solúvel em água podem ser fabricadas misturando o composto da invenção sob a forma de base livre com as substâncias veiculares ou os diluentes farmacêuticamente aceitáveis apropriados, sob condições tais que se forma uma composição em que o composto esteja presente em estado dissolvido numa solução aquosa, por exemplo, um hidrogel monofásico, ou um sistema de emulsão de duas fases em que o composto da invenção está na fase aquosa. A invenção inclui também portanto um processo para a preparação de uma composição farmacêutica que compreende misturar-se o composto da invenção com substâncias veiculares ou diluentes farmacêuticamente aceitáveis sob condições tais que se forma uma composição em que o composto esteja presente no estado dissolvido numa fase aquosa, por exemplo, um hidrogel monofásico ou um sistema de emulsão bifásico em que o composto está na fase aquosa. O composto de preferência encontra-se sob a forma de um sal de adição de ácido solúvel em água com um ácido hidroxicarbóxilico.

O processo anterior pode ser realizado de acordo com a maneira convencional, por exemplo, como se descreve em seguida:

O composto da invenção sob a forma de base livre é de preferência micronizado, por exemplo, como se descreve no Exemplo 1. O

*W. J. ...*

reagente que forma o sal e água são adicionados e a mistura é agitada até que se forme uma solução límpida. São então adicionados um agente antibacteriano, tal como o álcool benzílico e mais água para se obter a fase aquosa com o seu volume final. A fase oleosa é preparada separadamente por fusão conjunta de veículos que aumentam a consistência apropriados tais como palmitato de acetilo, álcool cetílico ou álcool estearílico com miristato de isopropilo e agentes emulsionantes tais como Arlacel 60<sup>®</sup> e Tween 60<sup>®</sup>. A fase oleosa é então adicionada, de preferência, a uma temperatura de cerca de 70°C. A homogeneização é seguida por arrefecimento com agitação contínua.

O composto da invenção, sendo um fenol, pode esperar-se que seja susceptível de ser oxidado. Essa oxidação pode ser inibida pelo uso de agentes anti-oxidantes. Uma outra forma de realização do conceito inventivo acima descrito inclui portanto, para a formação de sais de adição de ácido solúveis em água, a utilização de um reagente de formação de sal que pode actuar simultaneamente como um agente anti-oxidante, tal como o ácido ascórbico, como no Exemplo 7 e 8 ou, em alternativa adicionando um anti-oxidante como um sulfito de sódio.

#### SAIS DE ADIÇÃO DE ÁCIDO SOLÚVEIS EM ÁGUA

Formas solúveis em água do composto da invenção foram até agora totalmente desconhecidas. Assim a forma de base livre do composto da invenção e o seu sal de adição de ácido naftaleno-1,5-disulfonato mencionados por exemplo na Patente Norte Americana Nº 4.282.251 possuem uma solubilidade em água inferior a 0,1 mg/ml a 25°C.

Formas de sais de adição de ácido solúveis em água do composto da invenção foram agora descobertas, as quais são indicadas

*W. J. J. J.*

para uso, por exemplo, no hidrogel monofásico ou nos sistemas de emulsão bifásicos acima descritos. As formas de sais de adição de ácido solúveis em água são definidas como formas de sais de adição de ácido do composto de fórmula I, tal como se referiu acima, que possuem uma solubilidade em água igual a pelo menos, 1 mg/ml a 25°C. De preferência, a solubilidade em água é pelo menos igual a 14 mg/ml a 25°C, especialmente pelo menos 70 mg/ml a 25°C.

Os exemplos de sais de adição de ácido solúveis em água são sais de ácidos hidroxicarboxílicos. Os ácidos hidrocarboxílicos preferidos são os ácidos  $\alpha$ -hidroxicarboxílicos, de preferência, aqueles que são usados em dermatologia como adjuvantes terapêuticos, por exemplo, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido tartárico, ácido cítrico e ácido málico, de preferência, e ácido láctico e o ácido ascórbico, especialmente, o ácido láctico. É usada de preferência a mistura racémica.

A forma ópticamente activa preferida do ácido láctico é a forma D. A forma ópticamente activa preferida do ácido ascórbico é a forma L. A forma ópticamente activa preferida do ácido tartárico é a forma D.

Apesar de alguns ácidos  $\alpha$ -hidroxicarboxílicos serem usados em dermatologia como adjuvantes terapêuticos, por exemplo, o ácido láctico, que é sabido apresentar efeito de humificação da pele, são raramente usados em aplicações galénicas. Em particular, é totalmente inesperado que estes ácidos possam formar sais solúveis em água com o composto da invenção. Assim a preparação de formas galénicas em que o composto da invenção está presente no estado dissolvido numa fase aquosa, tal como um hidrogel monofásico ou em sistemas de emulsão bifásicos em que o composto da invenção está dissolvido numa fase aquosa, tornou-se agora possível.

A invenção compreende também, portanto, o composto de fórmula I tal como acima se descreveu sob a forma de um sal de adição

*W. J. J. J.*

de ácido solúvel em água.

A invenção compreende também ainda um processo para a preparação do composto de fórmula I sob a forma de um sal de adição de ácido como se definiu anteriormente fazendo reagir o composto de fórmula I sob a forma de base livre com um reagente de formação de um sal de adição de ácido e recuperando o sal resultante.

O processo anterior pode ser levado a cabo da forma convencional. O reagente de formação do sal é um ácido qualquer ou um derivado de ácido apropriado tal como um anidrido ou um halogeneto de ácido. É por exemplo o ácido láctico ou o ácido ascórbico quando se deseja obter o lactato ou, respectivamente, o ascorbato. O reagente é usado na quantidade estequiométrica, ou, de preferência, maior do que a quantidade estequiométrica, por exemplo, compreendida dentro do intervalo entre cerca de 1 equivalente a cerca de três equivalentes de reagente, de preferência, entre 1,1 equivalentes e cerca de 3,0 equivalentes, especialmente, entre cerca de 1,5 a cerca de 1,7 equivalentes, por exemplo, 1,7 equivalentes. A reação normalmente é efetuada no seio de água ou numa mistura de água com um álcool tal como etanol ou álcool benzílico ou álcool etílico. No entanto, para aplicações galénicas, a formação do sal é realizada preferivelmente *in situ*, isto é, após a preparação da forma galénica, por exemplo, uma loção, gel ou creme, que se pretende usar. Assim o material de partida para a formulação galénica geralmente é o composto da invenção sob a forma de base livre. Esta forma está bem caracterizada e pode ser facilmente cristalizada como acima se mencionou; pode assim ser usada como um material de partida conveniente num elevado estado de pureza.

Quando se usa mais do que um reagente de formação de sal podem ser obtidas simultaneamente várias formas de sais variando as proporções, por exemplo, uma mistura de lactato e de ascorbato, tal como nos Exemplos 7 e 8 abaixo descritos.

*W. Martins*

Os efeitos benéficos obtidos com os sais de adição de ácido solúveis em água acima mencionados, por exemplo, em composições farmacêuticas em que o composto da invenção está presente dissolvido numa fase aquosa, incluem uma dosagem mais rigorosa e evitam a irritação da pele resultante da presença do composto não dissolvido.

Assim, o composto da invenção sob a forma de base livre usado entre outros, na preparação do creme descrito no Exemplo 5, abaixo, tem o aspecto visível na Figura 5 antes da micronização. Quando este material é recristalizado a partir de etanol/água assume o aspecto de agulhas visíveis na figura 6, em anexo. Quando a maneira de proceder do Exemplo 5 é usada sem ácido láctico, isto é, com a omissão de b), no creme obtido o composto é também recristalizado e assume o mesmo aspecto com o formato de agulhas, como se vê na Figura 6. Tal se evidencia na Figura 7, apresentada em anexo. Pelo contrário, quando a técnica completa do Exemplo 5 é seguida, o composto fica completamente dissolvido no creme resultante, tal como é demonstrado na Figura 8 em anexo.

#### ASPECTOS TOXICOLÓGICOS

O composto da invenção possui uma baixa toxicidade; assim, pelo que diz respeito à toxicidade aguda no rato o valor de DL<sub>50</sub> espera-se que seja superior a 1000 mg/kg por via oral e superior a 500 mg/kg por via intraperitoneal.

#### B. EXEMPLOS

Os exemplos que seguem ilustram composições farmacêuticas adequadas para uso tópico e a sua preparação.

*W. J. ...*

Exemplo 1: Gel

<u>Ingrediente</u>	<u>Peso %</u>
a) Composto da invenção (sob a forma de base livre)	1,0
b) Hidroxipropilmetilcelulose (Kethocel 242)	3,0
c) Glicerol	5,0
d) Metilparaben	0,07
e) Propilparaben	0,03
f) H <sub>2</sub> O (gra farmacêutico) até perfazer	100,0 %

Microniza-se o componente a) usando um moedor por jacto de ar. O produto micronizado possui um tamanho máximo de partículas compreendido no intervalo entre 60 a 70  $\mu$ m e um tamanho médio de partículas entre 2 a 10  $\mu$ m e é combinado e misturado de forma convencional com os ingredientes apresentados na tabela anterior para se obter um gel acuoso que compreende 1% em peso do composto da invenção e é adequado para aplicação tópica.

Exemplo 2: Pomada

<u>Ingrediente</u>	<u>Peso %</u>	
	<u>Composição A</u>	<u>Composição B</u>
a) Composto da invenção (na forma de base livre)	1,0	5,0
b) Derivado de lanolina aniônico (lanochol 64B)	2,0	2,0
c) Parafina líquida	42,0	37,5
d) Petróleo branco	<u>55,0</u>	<u>55,5</u>
	100,0%	100,0%

a) é preparado como no exemplo 1 anterior.

*W. J. J. J.*

b), c) e d) são fundidos conjuntamente e agitados adicionando-se então a), a cerca de 30°C, sendo as partículas distribuídas usando um homogeneizador para esse efeito. A pomada obtida é arrefecida e embalada em tubos dobráveis para aplicação tópica.

Exemplo 3: Pomada

Ingrediente	Peso (%)
a) Composto da invenção (sob a forma de base livre)	1,0
b) Monoestearato de glicerol	7,0
c) Eter dietilenoglicol monoetilico (Transcutol <sup>R</sup> )	15,0
d) Parafina gelificada com polietileno (Plastibase <sup>R</sup> )	77,0
	<hr/>
	100,0

a) é preparado como no exemplo 1 e é dissolvido em c) com agitação e ligeiro aquecimento. c) e d) são fundidos conjuntamente a cerca de 60°C. A solução do fármaco é então adicionada com agitação e homogeneizada e o produto é arrefecido até à temperatura ambiente com agitação continua para se obter uma pomada.

Exemplo 4: Pomada

Ingrediente	Peso (%)
a) Composto da invenção (sob a forma de base livre)	1,0
b) Monoestearato de Glicerol	7,0



*W. J. J. J.*

c)	Poliéster glicol	15,0
d)	Parafina gelificada com polietileno (Plastibase <sup>®</sup> )	<u>77,0</u>
		100,0 g

É seguida a técnica do Exemplo 3, usando polietileno glicol em vez de Transcutol<sup>®</sup>.

Exemplo 5: Orem

	<u>Ingrediente</u>	<u>Peso g</u>
a)	Composto da Invenção (sob a forma de base livre)	1,0
b)	Ácido láctico	0,5
c)	Água desmineralizada	71,5
d)	Agente bactericida (álcool benzílico)	1,0
e)	Agente para aumento da consistência (palmitato de acetilo)	2,0
f)	Agente para aumento da consistência (álcool cetílico)	4,0
g)	Agente para aumento da consistência (álcool estearílico)	4,0
h)	Miristato de isopropilo	0,0
i)	Agente emulsionante (Lactacol 60 <sup>®</sup> )	1,9
j)	Agente emulsionante (Lecen 60 <sup>®</sup> )	6,1
		<u>100,0 g</u>

a) é preparado de forma idêntica à descrita para o Exemplo 1.  
Adicionou-se b) a cerca de metade da água e a mistura é agitada

*W. Soares*

até se obter uma solução límpida. Seguidamente, o resto da água c) e d) são adicionados de forma a obter a fase aquosa final. Esta fase é aquecida até cerca de 70°C, e), f), g), i) e j) são fundidos conjuntamente e aquecidos a 70°C para se obter a fase oleosa. Esta fase é então adicionada à fase aquosa quente e emulsionada usando um Homogeneizador. A homogeneização é continuada durante 10 minutos e então o produto é arrefecido até à temperatura ambiente com agitação contínua para se obter o creme final mantendo-se o fármaco dissolvido numa fase aquosa.

Exemplo 6: creme

<u>In ingrediente</u>	<u>peso g</u>
a) Composto da invenção (sob a forma de base livre)	5,0
b) ácido láctico	2,5
c) água desmineralizada	65,5
d) agente bactericida (álcool benzílico)	1,0
e) agente para aumento de consistência (palmitato de acetilo)	2,0
f) agente para aumento de consistência (álcool cetílico)	4,0
g) agente para aumento de consistência (álcool estearílico)	4,0
h) Miristato de isopropilo	6,0
i) Agente emulsionante (Arlecel 60 <sup>TM</sup> )	1,9
j) Agente emulsionante (Tween 60 <sup>TM</sup> )	6,1
	<hr/>
	100,0 g

O creme é preparado de forma análoga à do Exemplo 5, usando as quan-

*W. J. J. J.*

tidades acima indicadas.

Exemplo 7: Creme

<u>Ingrediente</u>	<u>Pese (%)</u>
a) Composto da invenção (sob a forma de base livre)	1,0
b) Acido láctico	0,5
c) Acido ascorbico	0,1
d) Agua desmineralizada	71,4
e) Agente bactericida (álcool benzílico)	1,0
f) Agente para aumento da consistência (palmitato de acetilo)	2,0
g) Agente para aumento da consistência (álcool cetílico)	4,0
h) Agente para aumento da consistência (álcool estearílico)	4,0
i) Miristato de isopropilo	8,0
j) Emulsionante (Arlacel 60 <sup>®</sup> )	1,9
k) Emulsionante (Tween 60 <sup>®</sup> )	6,1
	<hr/>
	100,00

O creme é preparado de forma análoga à do Exemplo 5, usando a mistura de ácidos láctico e ascorbico em vez de se usar apenas ácido láctico.

Exemplo 8: Creme

<u>Ingrediente</u>	<u>Peso %</u>
a) Composto da invenção (sob a forma de base livre)	5,0
b) Ácido Láctico	0,5
c) Ácido ascórbico	0,1
d) Água desmineralizada	65,4
e) Agente bactericida (álcool benzílico)	1,0
f) Agente para aumento da consistência (palmitato de cetilo)	2,0
g) Agente para aumento da consistência (álcool cetílico)	4,0
h) Agente para aumento da consistência (álcool estearílico)	4,0
i) Hidratante de isopropilo	8,0
j) Emulsificador (Polysol 60 <sup>2</sup> )	1,9
k) Emulsificador (Uween 60 <sup>2</sup> )	6,1
	100,0 %

O creme é preparado de forma análoga à do Exemplo 5, usando a mistura de ácidos láctico e ascórbico em vez de usar apenas ácido láctico.

Exemplo 9: Gel

<u>Ingrediente</u>	<u>Peso</u>
a) Composto da invenção (sob a forma de base livre)	1,0

b)	Acido lactico	0,5
c)	Hidroxipropilmetilcelulose (Methocel E4M)	3,0
d)	Glicerol	5,0
e)	Metilparaben	0,07
f)	Propilparaben	0,03
g)	Agua (grau farmacêutico) até perfazer	100,0

O composto a) é suspenso em parte da agua g). O acido lactico b) é adicionado e a mistura é agitada à temperatura ambiente até se formar uma solução límpida. e), f) e o resto da agua g) são então adicionados e a mistura é agitada com aquecimento até que todos os componentes se dissolvam. Num vaso separado mistura-se c) com d) conjuntamente de tal forma que todas as particulas estejam bem molhadas. Finalmente a solução aquosa dos outros componentes é adicionada e a mistura é agitada à temperatura ambiente até que se forma um hidrogel límpido.

O exemplos que se seguem ilustram sais de adição de acido soluveis em agua e a sua preparação; tais sais são indicados para uso, por exemplo, em composições farmacêuticas em que o composto da invenção esta presente em estado dissolvido numa fase aquosa.

Exemplo 10:      Lactato

50 mg do composto da invenção sob a forma de base livre são suspensos em 1 ml de agua destilada deuteriada (pesada). 23 mg de uma solução de acido lactico a 90% em agua pesada são adicionadas sob agitação à temperatura ambiente. Após aproximadamente 20 minutos, forma-se uma solução límpida. A presença do lactato revela-se claramente a partir do espectro de ressonância magnética nuclear em sulfoxido de dimetilo deuteriatado (DMSO-d<sub>6</sub>) (ver figura 1).

*W. J. J. J.*

Exemplo 11: Lactato

45 mg do composto da invenção sob a forma de base livre são dissolvidos em 1 ml de sulfóxido de dimetilo deuteriado ( $DMSO-d_6$ ). 15 mg de uma solução quosa de ácido láctico a 96% (quantidade equimolar) são adicionados com agitação à temperatura ambiente. O espectro de ressonância magnética nuclear desta solução (ver Figura 2), quando comparado com o espectro de ressonância magnética nuclear da base livre em  $DMSO-d_6$  (ver Figura 3) demonstra novamente a formação do sal, por exemplo, o desvio químico dos sinais para os grupos metilo e metileno adjacentes ao átomo de azoto no composto.

Exemplo 12: Lactato

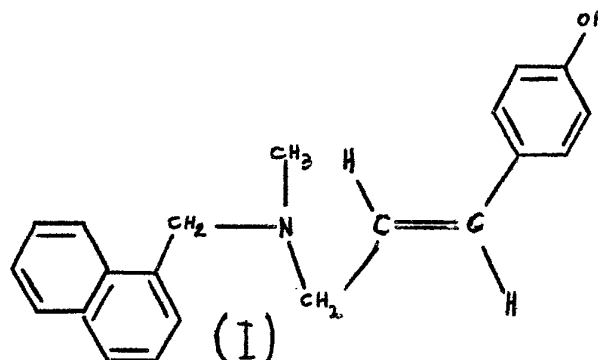
Repete-se a técnica do Exemplo 11, usando 50 mg do composto da invenção sob a forma de base livre e 23 mg (1,5 de excesso molar) de solução aquosa de ácido láctico. O espectro de ressonância magnética nuclear correspondente apresenta novamente a formação do sal (ver Figura 4).

Em todos os Exemplos anteriores "ácido láctico" e "lactato" significam a mistura racêmica das formas D e L.

*1. Ferreira*

REIVINDICAÇÕES

1ª - Processo para a preparação de derivados de naftalenometanamina, nomeadamente de sais de adição de ácido solúveis em água de (E)-N-metil-N-[3-(4-hidroxifenil)-2-propenil]-1-naftalenometanamina da fórmula (I)



caracterizado pelo facto de compreender a reacção do composto da fórmula (I) na forma de base livre, com um reagente adequado para formar um sal de adição de ácido e se recuperar o sal resultante.

2ª - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de se obter como produto final um sal que possui uma solubilidade em água de pelo menos 14 mg/ml a 25°C.

3ª - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de, como produto final, se obter um sal de adição de um ácido hidroxicarboxílico do composto da fórmula I.

4ª - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de como produto final, se obter o lactato do composto da fórmula (I).

5ª - Processo para a preparação de uma composição farmacêutica adequada para uso anti-inflamatório, caracterizado pelo facto de se

*W. J. J. J.*

misturar um composto da fórmula (I) de acordo com a reivindicação 1, na forma de base livre ou na forma de sal de adição de ácido farmacêuticamente aceitável com um agente veicular ou diluente farmacêuticamente aceitável.

6.ª - Processo para a preparação de uma composição farmacêutica que contém um composto da fórmula (I) na forma de sal de acordo com a reivindicação 1, no estado dissolvido em fase aquosa, caracterizado pelo facto de compreender a operação de mistura de um composto da fórmula (I) de acordo com a reivindicação 1, na forma de base livre com os agentes veiculares ou diluentes adequados farmacêuticamente aceitáveis, em condições tais que se forme uma composição em que o composto está presente em estado dissolvido numa fase aquosa.

Lisboa, 01 de Março de 1990

O Agente Oficial da Propriedade Industrial

*A. de S. J. J.*

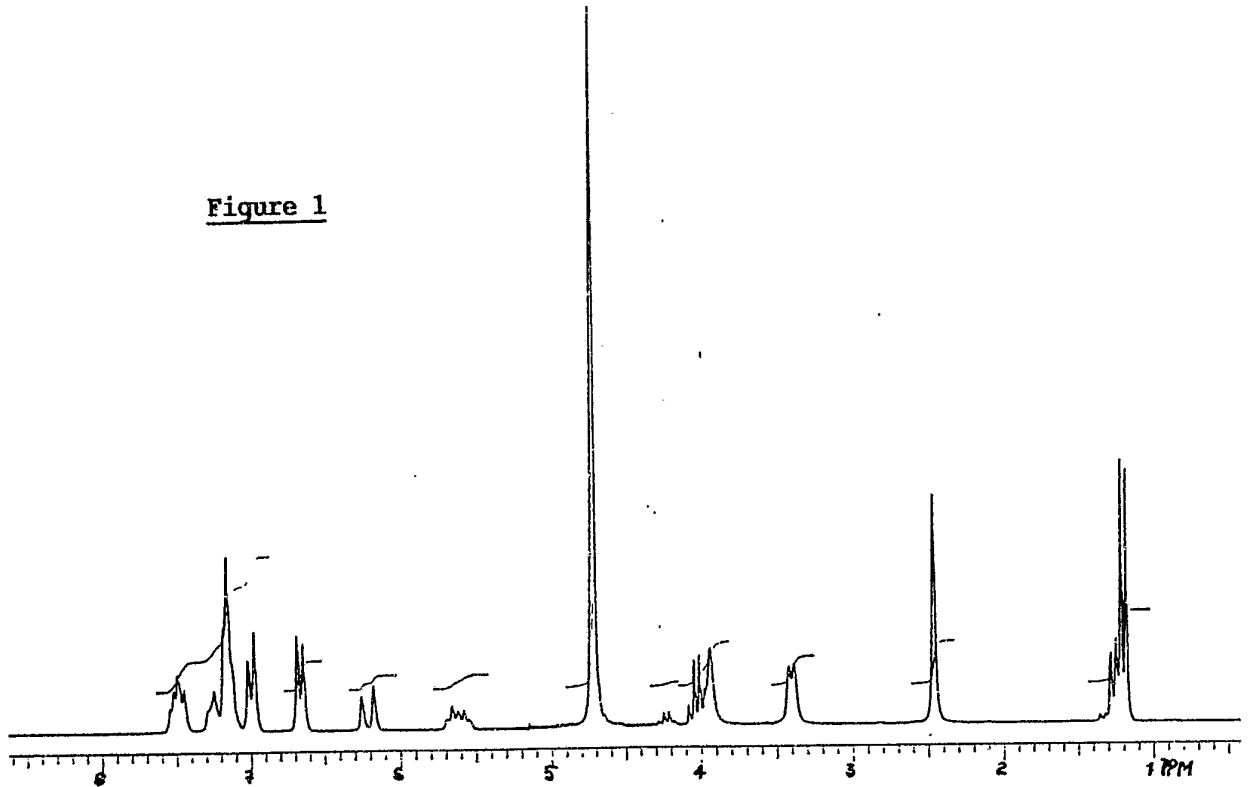
**Américo da Silva Carvalho**  
Agente Oficial da Propriedade Industrial  
Rua Castilho, 201 - 3.º Esq.  
Telef. 65 13 39 - 1000 LISBOA



DESENHOS 8-Nº1

Wanner

Figure 1

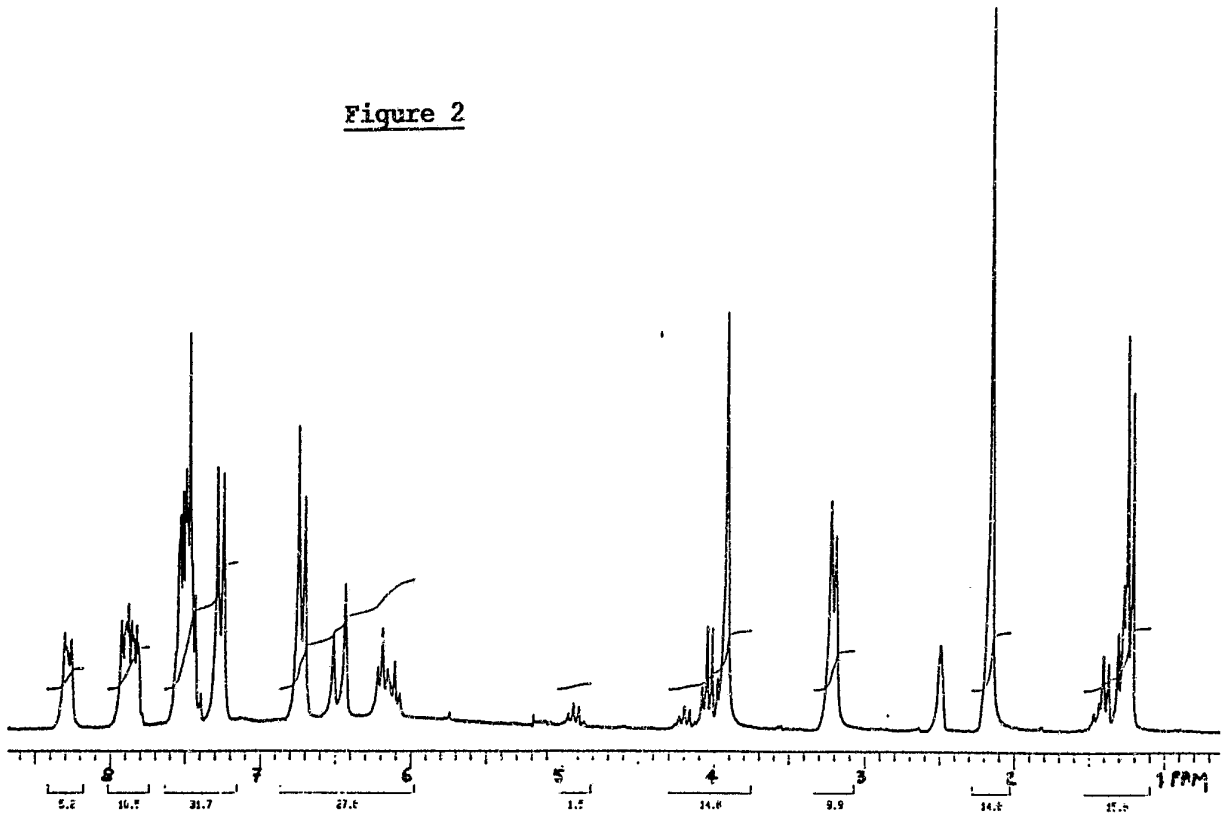


Sandoz, S.A.

DESENHOS 8-Nº2

*W. J. ...*

Figure 2

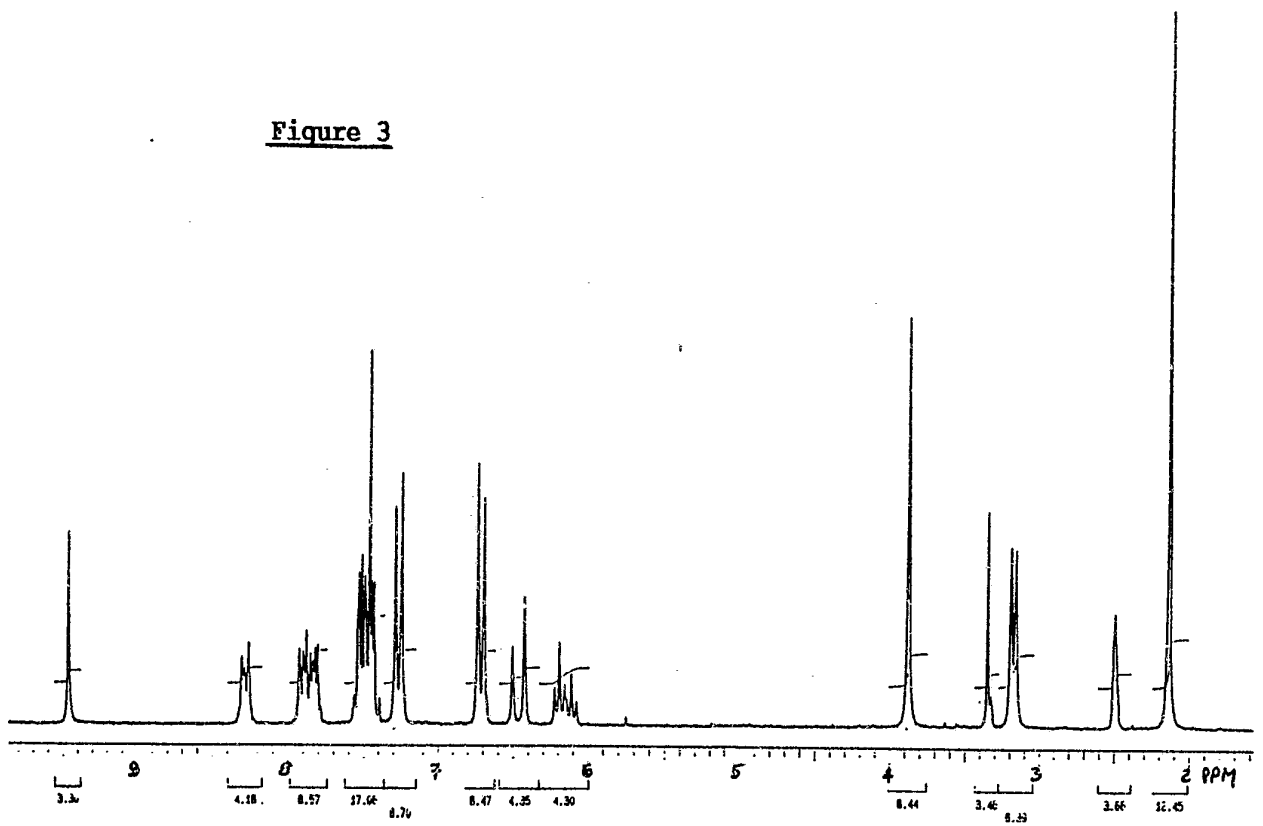


Sandoz, S.A.

DESENHOS 8-1123

W. J. J. J.

Figure 3

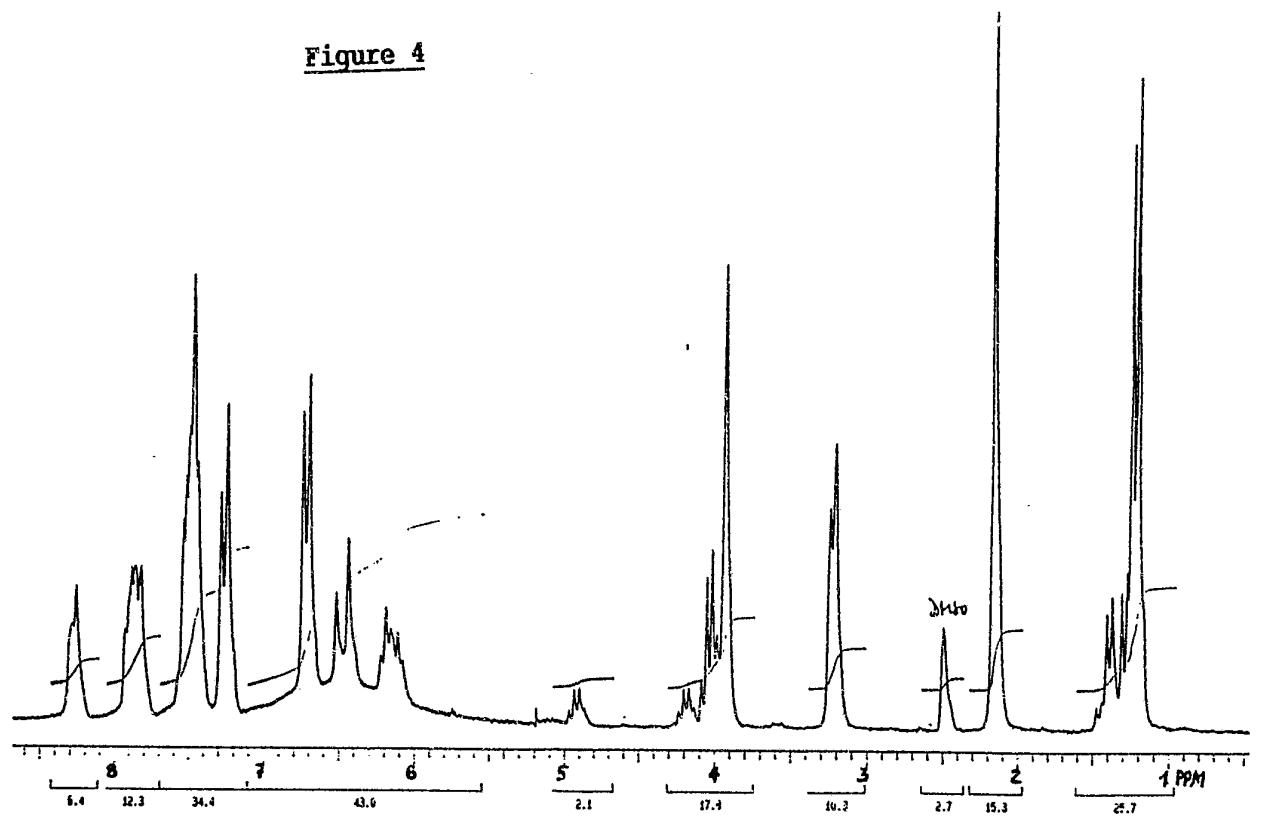


Sandoz, S.A.

DESENHOS B-Nº4

W. Amos

Figure 4

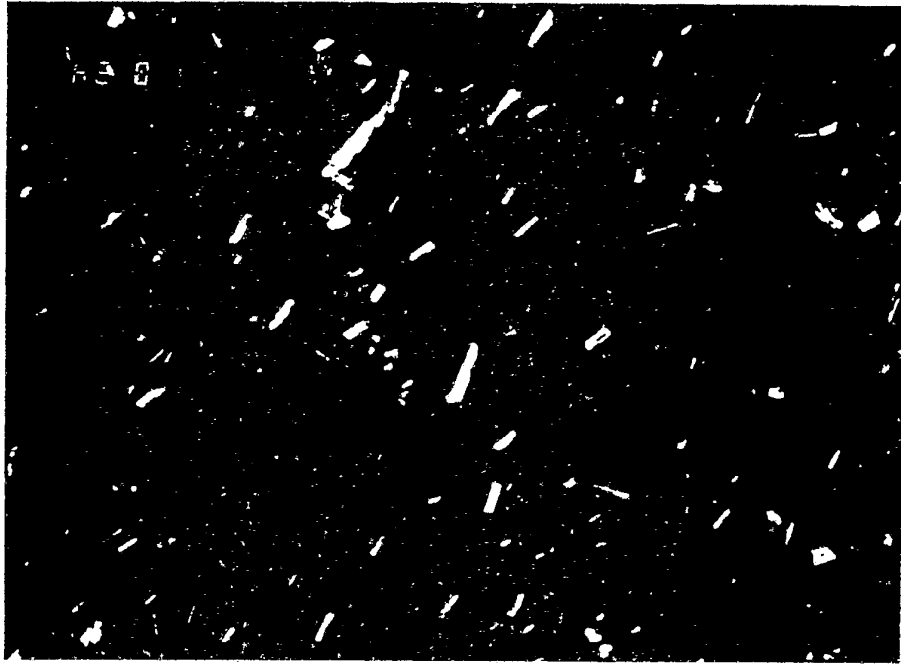


Sandoz, S.A.

DESENTIOS 8-Nº 5

W. J. J. J.

Figure 5

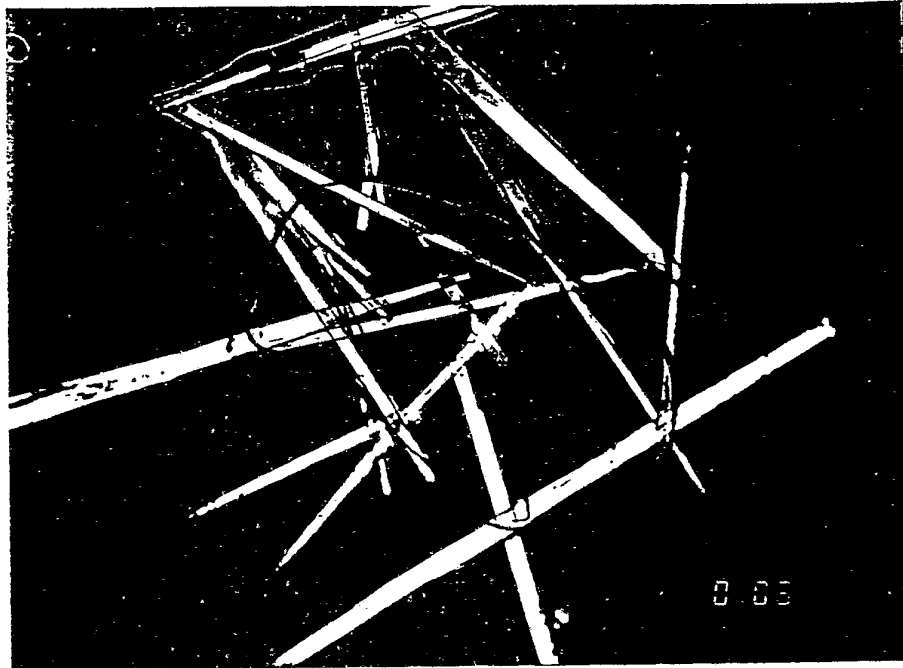


Sandoz, S.A.

DESENHOS 8-Nº6

*afunera*

Figure 6

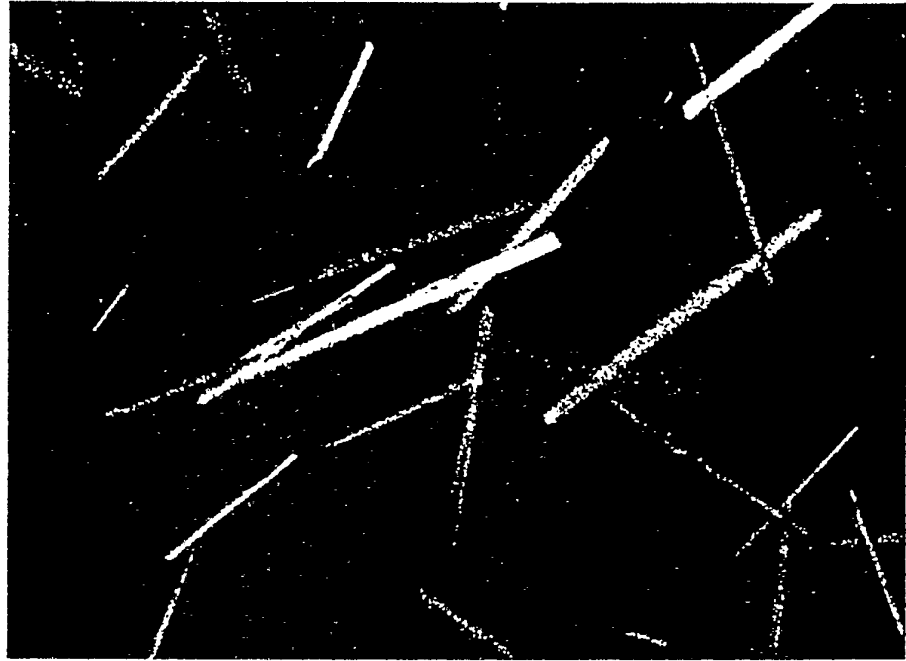


Sandoz, S.A.

DESENHOS 8-Nº7

W. J. J. J.

Figure 7



Sandoz, S.A.

DESENHOS 8-Nº8

W. Amara

Figure 8



Sandoz, S.A.