



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 1102718-5 B1



* B R P I 1 1 0 2 7 1 8 B 1 *

(22) Data do Depósito: 06/06/2011

(45) Data de Concessão: 02/06/2020

(54) Título: PRODUTO NA FORMA DE KIT REAGENTE PARA MOLÉCULAS LIPOFÍLICAS

(51) Int.Cl.: A61K 31/724.

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO UFPE.

(72) Inventor(es): JOSÉ LUIZ DE LIMA FILHO; PABYTON GONÇALVES CADENA; VALDINETE LINS DA SILVA; ALBERTO DA NOVA ARAÚJO; MARIA DA CONCEIÇÃO BRANCO DA SILVA DE MEDONÇA MONTENEGRO; MARIA DO CARMO DE BARROS PIMENTEL.

(57) Resumo: PRODUTO NA FORMA DE KIT REAGENTE PARA MOLÉCULAS LIPOFÍLICAS. A presente invenção refere-se a um produto na forma de kit reagente para dosagem de moléculas lipofílicas que contém complexo de inclusão entre ciclodextrina e indicador como componente ativo, estabilizado em solução tampão. Kit reagente que pode ser usado em laboratórios de controle de qualidade de formulações comerciais que contém moléculas lipofílicas, análise "in loco" de produtos comerciais ou análises a longa distância para controle de qualidade ou fiscalização de produtos comerciais, ou mesmo para monitoramento de pacientes, uma vez que a presente invenção pode ser usada em diferentes modalidades, tais como sensor óptico que pode ser analisado por dispositivos de análise, leitura e transmissão, o que facilita o trabalho de órgãos de fiscalização ou laboratórios de controle de qualidade de produtos comerciais

PRODUTO NA FORMA DE KIT REAGENTE PARA MOLÉCULAS LIPOFÍLICAS

RELATÓRIO DESCRITIVO

5 Campo da Invenção

A presente invenção contempla um kit reagente para moléculas lipofílicas, contendo como componente ativo o complexo de inclusão ciclodextrina - indicador estabilizado em solução tampão.

10 Antecedentes da Invenção

Os métodos usados para dosar moléculas lipofílicas como os ácidos biliares em preparações farmacêuticas e cosméticas comerciais são onerosos, sofisticados e envolvem etapas complexas de extração dos mesmos, dificultando o trabalho de órgãos de fiscalização, por exemplo, FDA e ANVISA que precisam esperar os resultados das análises para autuar o estabelecimento ou a indústria.

O kit reagente desta invenção torna mais simples, rápida e econômica a dosagem de ácidos biliares, podendo ser usado "*in loco*", o que facilita o trabalho dos órgãos de fiscalização.

Algumas invenções buscaram o uso de complexos de inclusão com ciclodextrinas para aumentar a solubilidade de drogas hidrofóbicas em água e melhorar a absorção das mesmas pelos sistemas biológicos ou para liberação controlada do princípio ativo da formulação farmacêutica. A patente PCT WO 2004/017897 A2 (2004) descreve uma formulação aquosa de aripirazol usado como antipsicótico nos casos de esquizofrenia na forma de complexo de inclusão com β -ciclodextrina substituída para reduzir a irritação local causada pela injeção intramuscular deste fármaco. Uma aplicação amplamente utilizada de complexos de inclusão com ciclodextrinas é em formulações farmacêuticas para facilitar a solubilidade em água de princípios ativos lipofílicos reduzindo seus efeitos

indesejáveis, o que não acontece em relação ao uso de complexos de para dosagem de moléculas lipofílicas contidas nas formulações farmacêuticas e cosméticas. Quando utilizados, os componentes para formação do complexo são colocados simultaneamente com a molécula lipofílica a ser analisada como descrito por Afkhami et al. (2006) e Glazyrin et al. (2004).

Outras patentes, como PCT 00610134.9 de 2000 descreve um complexo de inclusão entre β -ciclodextrina ou γ -ciclodextrina e drospirenona, usado na menopausa e como contraceptivo, para aumentar a solubilidade em água pura ou com álcool para estabilizar a mistura farmacêutica, mas não usa tampão para estabilizar o complexo reduzindo os efeitos de umidade, temperatura e quantidade de água relatados pelo autor.

Não muito diferente das citadas acima, a patente PCT WO 98/42382 (1998) também descreve o uso preferencial de derivados de β -ciclodextrina para solubilização em água de fluoxetina e nor-fluoxetina usados como antidepressivos. O complexo foi preparado utilizando água ou uma mistura de água e um solvente orgânico hidrofílico. Que nestas condições, o complexo de inclusão formado pode sofrer efeitos de umidade, temperatura, luz, dentre outros, alterando a quantidade de fármaco na forma de complexo de inclusão desde que o mesmo está em equilíbrio dinâmico.

Entretanto, não foram encontrados registros de patentes sobre a aplicação de complexos de inclusão com ciclodextrinas como reagente ativo de kits para dosagem de moléculas lipofílicas.

Alguns trabalhos científicos citam a formação do complexo de inclusão beta-ciclodextrina-fenolftaleína para determinar a concentração de ácidos biliares, mas esse complexo é formado instantaneamente por competitividade com o ácido biliar no próprio sistema de reação e a mistura é colocada imediatamente no espectrofotômetro para leitura da absorbância (Afkhami et al., 2006; Glazyrin et al., 2004). O pH das soluções de complexos de inclusão citados são ajustados com ácidos, bases e alguns poucos usam solução tampão para ajustar o pH não para estabilizar o complexo.

Até o presente momento não foi registrada nem pensada a possibilidade de ter uma solução estável de complexos de inclusão β -ciclodextrina – indicador, que na presente invenção foi usada a fenolftaleína, que possa ser guardada para usos posteriores. Os complexos de inclusão sempre foram produzidos “*in situ*” de forma instantânea e competitiva com a molécula a ser analisada e o indicador, como método indireto de análise de moléculas hidrofóbicas.

A patente JP 63256679 (A2), por exemplo, descreve a preparação de um sensor fluorescente reagindo ciclodextrinas ou seus derivados com grupos reativos de uma matrix polimérica, formando uma camada hidrofílica sobre a superfície hidrofóbica do filme.

Alguns trabalhos científicos reportam a aplicação de ciclodextrinas como eletrodos modificados de pasta de carbono para detecção de fenol (Favero et al., 2004; Tingry et al., 2006). Tem sido publicado também o uso de complexo de inclusão β -ciclodextrina- tetrametilbenzidina e ferroceno como parte ativa de um biossensor voltamétrico de polifenol oxidase (Tu and Chen, 2001).

Em função da demanda existente, a presente invenção resolve as atuais limitações do estado da técnica permitindo a formação de um complexo de inclusão ciclodextrina-indicador estabilizado em solução tampão que pode ser armazenado e usado para detectar e medir a concentração de moléculas lipofílicas presentes em preparações comerciais ou complexos de inclusão entre ciclodextrinas e medicamentos lipofílicos estabilizados em solução tampão em vez de água e co-solventes, prolongando o prazo de validade do medicamento.

Descrição da Invenção

Kit reagente contendo como componente ativo o complexo de inclusão de ciclodextrina-indicador em solução tampão para manter o pH específico para o indicador utilizado e estabilizar o complexo de inclusão. A solução do kit reagente foi homogeneizada por agitação preferencialmente vigorosa após a adição de cada componente da mistura. A solução do kit reagente resultante, conservada em vidro

escuro à temperatura ambiente, mantém 100% de suas características químicas e físico-químicas durante 60 dias e apresentou um tempo de meia-vida de 9-10 meses. A faixa de detecção dos ácidos biliares, usando a solução do kit reagente é bem definida. Não há interferências dos excipientes contidos nas formulações farmacêuticas e cosméticas testadas. Além de ser facilmente preparado, o kit reagente, ainda apresenta a grande vantagem de pode ser usado em larga ou micro escala.

Seguem abaixo descrições da invenção, em algumas de suas modalidades preferidas, em relação às figuras 1, 2 e 3.

1. Esquema do complexo de inclusão formado entre a ciclodextrina e indicador, no qual ciclodextrina (CD) a qual é misturada com o indicador (I) na presença de solução tampão (T), como mostra a figura 1;
2. Esquema da molécula lipofílica deslocando o indicador da cavidade da ciclodextrina no qual o complexo de inclusão ciclodextrin-indicador (CDI) em solução tampão (T) é misturado à amostra (A) que é uma molécula lipofílica a qual forma o complexo de inclusão (CDA);
3. Esquema do sistema de dosagem de moléculas hidrofóbicas com a solução do kit reagente o qual é composto por um dispositivo que contém módulo de análise (DA); módulo de leitura de resultados (LR) e módulo de transmissão (MT), o qual está conectado a um servidor a distancia com módulo de transmissão;

Uma modalidade preferida, conforme descrito na figura 1, descreve a preparação do complexo de inclusão entre a ciclodextrina e a molécula lipofílica do indicador em solução tampão no pH específico para o indicador utilizado, sob agitação preferencialmente vigorosa à temperatura ambiente.

Na presente invenção, preferimos formular o complexo de inclusão entre a β -ciclodextrina e a fenolftaleína como indicador em tampão bicarbonato, que não só manteve o pH alcalino ideal para o indicador usado, como também funcionou como estabilizador do complexo de inclusão, requerido para a construção do kit reagente.

A fenolftaleína em solução tampão no pH alcalino apresenta cor de róseo a vermelho, mas ao formar o complexo de inclusão com a ciclodextrina (β -ciclodextrina-fenolftaleína), a solução fica incolor devido à entrada da fenolftaleína na cavidade lipofílica da molécula de ciclodextrina.

5 A segunda modalidade é representada na figura 2 que mostra a formação competitiva do complexo de inclusão entre a ciclodextrina e a molécula lipofílica contida na amostra, ocorrendo a substituição do indicador pela molécula lipofílica da amostra na cavidade da ciclodextrina, provocando a mudança de coloração devido ao pH da solução tampão na parte externa da molécula de ciclodextrina.

10 Para esta invenção, as moléculas lipofílicas utilizadas como amostras foram os ácidos biliares (ácidos desoxicólico e ursodesoxicólico), os quais foram colocados em contato com a solução do kit reagente (complexo de inclusão β -ciclodextrina-fenolftaleína), em tampão carbonato de sódio a pH 10,5. A substituição da fenolftaleína da cavidade da molécula de β -ciclodextrina pelos ácidos biliares,
15 formando os complexos de inclusão β -ciclodextrina-ácido desoxicólico e/ou β -ciclodextrina-ácido ursodesoxicólico, fez com que a solução tamponada do kit reagente passasse de incolor para róseo, cuja intensidade foi proporcional a concentração desses ácidos biliares adicionadas a solução do kit reagente. Os testes comprovaram que os ácidos biliares testados podem ser mensurados numa faixa de linearidade bem
20 definida de $6,1 \times 10^{-6}$ a $3,1 \times 10^{-3}$ mol/L.

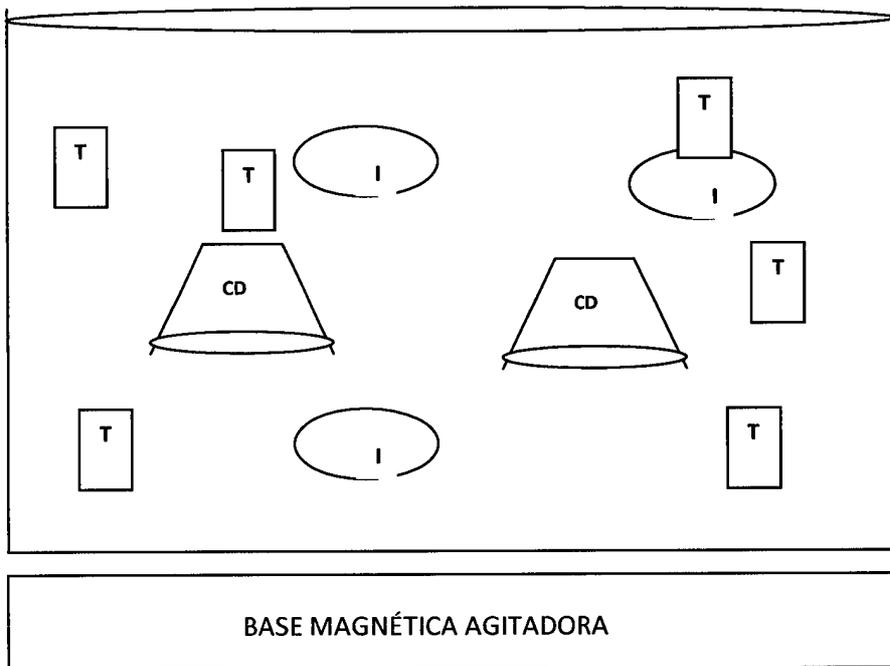
Na referida invenção, também foi testado o alcalóide cafeína como molécula lipofílica e como reagente ativo o complexo de inclusão β -ciclodextrina-vermelho de metila em tampão carbonato de sódio a pH 10,5. A substituição do indicador vermelho de metila da cavidade da molécula de β -ciclodextrina pela cafeína formou por
25 competitividade complexo de inclusão β -ciclodextrina-cafeína, causando mudança de coloração do meio reagente de incolor para róseo, cuja intensidade foi proporcional a concentração desse alcalóide adicionado a solução do kit reagente. Os testes comprovaram que o alcalóide testado pode ser mensurado numa faixa de linearidade definida.

Numa modalidade preferida, conforme descrito na figura 3, um dispositivo de leitura, transmissão e recepção de sinais digitais e análise de resultados é utilizado para determinar a concentração de moléculas lipofílicas nas amostras testadas comparando a intensidade de coloração produzida pela amostra à coloração produzida por um padrão de concentração conhecida e um branco, cuja amostra foi substituída 5 por água ou tampão. O leitor é composto de um transmissor (3G, ou outros) que transmite e recebe resultados de análises de um servidor a distância, permitindo que a análise seja realizada *"in loco"*, facilitando a fiscalização ou a assistência das entidades competentes nas situações a longa distância.

REIVINDICAÇÕES

- 1) Produto na forma de kit reagente para moléculas lipofílicas, **caracterizado por** um kit contendo uma solução de complexo de inclusão ciclodextrina-indicador, tampão e alginato estabilizada dentro de uma matriz polimérica em um componente do Módulo de análise (DA) sendo este uma superfície sólida como uma fita de papel com cobertura composta por polímeros hidrofóbicos com poços de amostragem, um módulo de leitura de resultados (LR) como um sensor ótico para dosagem de moléculas lipofílicas e um módulo de transmissão (MT) com recepção de sinais digitais.
- 2) Produto na forma de kit reagente para moléculas lipofílicas, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado pela** matriz polimérica ser o alginato de sódio em forma de gel e a fita de papel ser do tipo cartolina, componente do Módulo de análise (DA).
- 3) Produto na forma de kit reagente para moléculas lipofílicas, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado pelo** indicador ser a fenolftaleína ou vermelho de metila.
- 4) Produto na forma de kit reagente para moléculas lipofílicas, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado pelas** moléculas lipofílicas serem sais biliares e alcaloides.
- 5) Produto na forma de kit reagente para moléculas lipofílicas, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado pelo** dispositivo de leitura, transmissão e análise de dosagem de moléculas lipofílicas ser um módulo de leitura como um scanner, por exemplo, um módulo de transmissão (MT) e recepção de sinais digitais e um módulo de leitura dos resultados (LR) que pode ser colocado à distância dos dois primeiros.

Figura 1



5

Figura 2

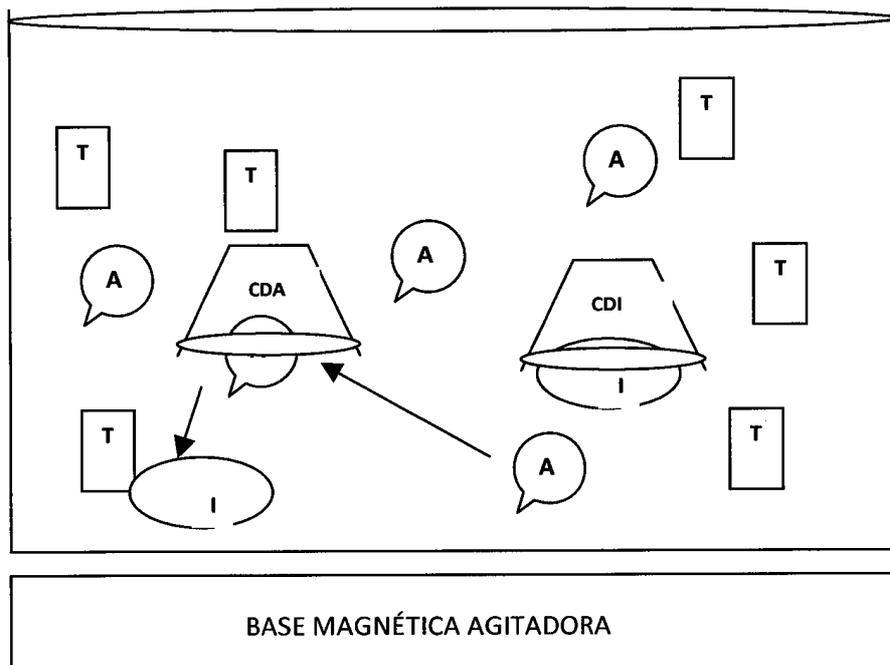


Figura 3

