



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 1103695-8 A2

(22) Data do Depósito: 13/07/2011

(43) Data da Publicação: 05/04/2016
(RPI 2361)



(54) **Título:** COMPLEXO DE INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES DE EFAVIRENZ PARA O INCREMENTO DA SOLUBILIDADE NA TERAPIA ANTI-HIV

(51) **Int. Cl.:** A61K 31/535; A61K 47/40; A61P 31/18

(73) **Titular(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ (UFPI), UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARA, UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

(72) **Inventor(es):** ROSALI MARIA FERREIRA DA SILVA, PEDRO JOSÉ ROLIM NETO, MÔNICA FELTS DE LA ROCA SOARES, LUISE LOPES CHAVES, ALEXANDRE COUTO CARNEIRO VIEIRA, DANILO AUGUSTO FERREIRA FONTES, LARISSA ARAUJO ROLIM, LARIZA DARLENE SANTOS ALVES

(57) **Resumo:** COMPLEXO DE INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES DE EFAVIRENZ PARA O INCREMENTO DA SOLUBILIDADE NA TERAPIA ANTI-HIV. A

presente patente refere-se à formulação do complexo de inclusão e sistema multicomponentes de efavirenz para o incremento da solubilidade na terapia anti-HIV. Esta patente refere-se a um produto farmacêutico que o principal componente é o insumo farmacêutico ativo efavirenz (EFZ) cuja estrutura química é o (S)-(-)-6-cloro-4-(ciclopropiletinil)-4-(trifluormetil)-2,4-dihidro-1H-3,1-benzoxazin-2-ona e os excipientes metil-225>-ciclodextrina (M-13-CD), em diferentes concentrações, e polivinilpirrolidonas (PVP K-30, PVP K-12, PVP K-15, PVP K-17, PVP K-25, PVP K-60, PVP K-90 e PVP K-120). O complexo de inclusão entre o EFZ e a M-225>-CD demonstrou-se estável, observando-se eficiência na complexação e um incremento na solubilidade, que inicialmente era de 8-10 109>g/mL e aumentou para 70-80 109>g/mL. Isto pode ser justificado pela presença de grupos de metila, uma vez que estes grupos são importantes para o alargamento da cavidade das CDs, favorecendo um ambiente mais hidrofílico externamente e hidrofóbico internamente(...)

COMPLEXO DE INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES DE EFAVIRENZ PARA O INCREMENTO DA SOLUBILIDADE NA TERAPIA ANTI-HIV

A presente patente refere-se à formulação do complexo de inclusão e sistema
5 multicomponentes de efavirenz para o incremento da solubilidade na terapia anti-HIV.

Esta patente refere-se a um produto farmacêutico que o principal componente é o
insumo farmacêutico ativo efavirenz (EFZ) cuja estrutura química é o (S)-(-)-6-cloro-4-
(ciclopropiletinil)-4-(trifluormetil)-2,4-dihidro-1H-3,1-benzoxazin-2-ona e os
excipientes metil- β -ciclodextrina (M- β -CD), em diferentes concentrações, e
10 polivinilpirrolidonas (PVP K-30, PVP K-12, PVP K-15, PVP K-17, PVP K-25, PVP K-
60, PVP K-90 e PVP K-120).

O estudo de solubilidade de fases com a ciclodextrina foi realizado de acordo com
Higuchi e Connors (1965). Pesou-se quantidades de EFZ (20-50 mg) em tubos de
ensaio aos quais se adicionaram 5-20 mL de soluções de M- β -CD em diferentes
15 concentrações. As amostras foram agitadas em banho-maria termostático protegido da
luz por 2-7 dias, à temperatura ambiente ($25\pm 2^\circ\text{C}$). Este período de tempo foi
estabelecido com base em estudos realizados por Sathigari e colaboradores (2009),
cujos resultados indicaram que, ao fim desse período, a solubilidade do EFZ se
mantinha constante.

20 Após alcançado o equilíbrio, o conteúdo de cada frasco foi filtrado e as soluções
filtradas foram quantificadas por espectrofotômetro a 247 nm, método desenvolvido e
validado por Alves e colaboradores (2010). Os experimentos foram realizados em
triplicata e hermeticamente fechados.

Foi realizado um estudo de solubilidade utilizando a M- β -CD, no qual foram
25 adicionadas diferentes concentrações de polivinilpirrolidonas (PVP-K30, PVP K-12,
PVP K-15, PVP K-17, PVP K-25, PVP K-60, PVP K-90 e PVP K-120).

Diferentes quantidades de EFZ foram colocadas em tubos de vidro, onde foram
adicionados 5-20 mL de soluções de M- β -CD e diferentes concentrações de
polivinilpirrolidonas (PVP K-30, PVP K-12, PVP K-15, PVP K-17, PVP K-25, PVP K-
30 60, PVP K-90 e PVP K-120). As ampolas foram hermeticamente fechadas e colocadas
no banho ultrassônico durante 0,5-3h a $50-70^\circ\text{C}$, seguido de um período em banho com

agitação mecânica, com temperatura de 25-30°C por 2-7 dias. Terminado o período, as amostras foram filtradas e doseadas por espectrofotometria ($\lambda=247$). Os resultados foram estatisticamente tratados por Análise de Variância (ANOVA).

5 Foram realizados estudos para obtenção dos sistemas multicomponentes no estado sólido pela técnica da malaxagem, para avaliação das associações mais promissoras entre ciclodextrinas e polímeros hidrofílicos a fim de selecioná-los a partir dos melhores resultados obtidos no desenvolvimento em lotes de bancada de multicomponentes. Esta técnica foi selecionada devido ao elevado rendimento e à facilidade de transposição de escala.

10 O sistema malaxado foi preparado, complementado pela adição lenta de solução contendo etanol e água, em uma quantidade de 10-40%, até completa homogeneização, visando a obtenção de uma consistência úmida, característica do malaxado (MX). Posteriormente, as amostras foram secas em estufa a 30-60°C por 40-90 minutos, e após secagem, a massa resultante foi tamisada.

15 Os estudos de dissolução *in vitro* foram executados seguindo especificações do *Food and Drug Administration* (FDA) para fármacos pouco solúveis usando a *United States Pharmacopeia* (USP). Os ensaios foram realizados a $37\pm 0,5$ °C, utilizando 500-900 mL de meio lauril sulfato de sódio (LSS) 0,5-1,0%, aparato 2 (pá) e velocidade de rotação de 50-100 rpm.

20 Foram utilizadas cápsulas gelatinosas duras, contendo quantidade do efavirenz isolado, do MX equivalente de 20-50 mg do fármaco. As coletas foram realizadas no período 15-60 min, onde foram retirados 3-6 mL do meio de dissolução, seguidas de reposição.

25 As amostras foram filtradas e devidamente diluídas para posterior quantificação do EFZ por espectrofotometria no UV a 247 nm, utilizando metodologia validada por Alves e colaboradores, 2010. Foram realizadas análises em triplicata para cada sistema multicomponente.

Os resultados de difração de Raios-X das amostras foram obtidos usando equipamento difratômetro, equipado com ânodo de cobre, no intervalo de ângulo 2θ de

2-60 a uma velocidade de digitalização de $0,02^\circ 2\theta/s$. As amostras foram preparadas em suportes de vidro com uma fina camada de material dos pós sem solvente.

As amostras analisadas na espectroscopia na região de infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF) foram transferidas diretamente para o compartimento do dispositivo de ATR, sendo o resultado obtido da média de 4 varreduras. Os espectrogramas foram obtidas de 650 a 4000 cm^{-1} na resolução de 4 cm^{-1} .

As curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram obtidas com atmosfera de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, na faixa de temperatura de 25 – 200°C . As amostras EFZ, M β CD, PVP, complexo de inclusão e sistemas de multicomponentes foram colocadas em porta amostra de alumínio hermeticamente fechados com 1-3 mg. As determinações foram realizadas em triplicata. Índio e zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia.

Para a verificação do comportamento térmico das amostras foram realizadas condições de aquecimentos na faixa de 80 a 400°C na razão de 5 - $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, utilizando nitrogênio com fluxo de 30 - $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

A caracterização através da curva de termogravimetria (TG) foi realizada por meio de termobalança, modelo TGA Q60, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 30 - $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, sendo a massa da amostra de 2-4 mg das amostras EFZ, M β CD, PVP, complexo de inclusão e sistemas multicomponentes, acondicionadas em cadinho de alumina na faixa de temperatura de 25 a 600°C na razão de aquecimento de 5 - $20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Antes dos ensaios, verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de alumínio e zinco.

A avaliação da morfologia das amostras foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), após serem fixadas em fita de dupla face de carbono e metalizadas com ouro por 10-20 min. As eletromicrografias foram obtidas em uma câmara com tensão de excitação de 10-20 KV.

O complexo de inclusão entre o EFZ e a M- β -CD demonstrou-se estável, observando-se eficiência na complexação e um incremento na solubilidade, que inicialmente era de 8 - $10\text{ }\mu\text{g/mL}$ e aumentou para 70 - $80\text{ }\mu\text{g/mL}$. Isto pode ser justificado pela presença de grupos de metila, uma vez que estes grupos são importantes para o

alargamento da cavidade das CDs, favorecendo um ambiente mais hidrofílico externamente e hidrofóbico internamente favorecendo a adaptabilidade dos fármacos, através de uma maior flexibilidade.

Os sistemas multicomponentes entre o EFZ- M- β -CD e polivinilpirrolidona
5 levaram a um aumento da solubilidade do EFZ de 8-10 $\mu\text{g/mL}$ para 50-90 $\mu\text{g/mL}$.

Foi verificado no perfil de dissolução *in vitro*, que a técnica de malaxagem proporcionou uma melhora visível na estrutura do sistema multicomponente, uma vez que o processo de molhagem possibilitou uma possível complexação (EFZ – M- β -CD), devido ao revestimento do complexo pela polivinilpirrolidona que atua como co-
10 complexante, aumentando o potencial hidrofílico da M- β -CD, aumentando a área de contato entre as partículas e sua homogeneidade.

O perfil de difração do EFZ evidencia o seu caráter cristalino, demonstrando numerosos picos de difração, o que não foi verificado com o difratograma da M- β -CD e da polivinilpirrolidona mostrando-se totalmente difuso indicando a natureza não
15 cristalina.

Os espectros do MX apresentaram diminuição da intensidade das bandas referentes ao EFZ, com destaque à banda referente ao estiramento C=O, além de evidenciar a presença das bandas referentes ao estiramento O-H da polivinilpirrolidona e da M- β -CD, que se sobrepõe a banda (N-H) do EFZ. Paralelamente, estiveram
20 presentes em todos os espectros as bandas referentes ao estiramento C-H e C=O da polivinilpirrolidona, sendo estas sempre em menor intensidade. Adicionalmente, nota-se que a vibração do estiramento C \equiv C mostra-se praticamente ausente no sistema MX, sugerindo uma possível complexação da M- β -CD nessa região do efavirenz, o ciclopropano. Pode-se inferir que tanto no sistema multicomponente MX, houve
25 interações intermoleculares entre a polivinilpirrolidona, a M- β -CD e o EFZ, principalmente ligações de hidrogênio.

Na Calorimetria Exploratória Diferencial, sugere-se que a presença da M- β -CD e da polivinilpirrolidona dificultam o processo de fusão do EFZ, fazendo com que haja tanto o deslocamento deste evento para temperaturas superiores, como alargamento
30 desses picos e consequente aumento da energia de entalpia envolvida. Dessa forma,

sugere-se que os sistemas obtidos podem estar proporcionando uma maior estabilidade ao fármaco, o que pôde também ser confirmada através da análise de termogravimetria.

Na microscopia eletrônica de varredura, observou-se a forma cristalina do fármaco EFZ, apresentando cristais irregulares de formato ortorrômbico, enquanto que a
5 polivinilpirrolidona e a M- β -CD são compostos por partículas esféricas características.

REIVINDICAÇÕES

- 1. COMPLEXO DE INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES DE EFAVIRENZ PARA O INCREMENTO DA SOLUBILIDADE NA TERAPIA ANTI-HIV**, caracterizado por otimizar a eficácia terapêutica de medicamentos anti-retrovirais contendo como insumo ativo o efavirenz.
- 2. COMPLEXO DE INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES DE EFAVIRENZ PARA O INCREMENTO DA SOLUBILIDADE NA TERAPIA ANTI-HIV**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por conter como complexo de inclusão o efavirenz e a metil- β -ciclodextrina.
- 3. COMPLEXO DE INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES DE EFAVIRENZ PARA O INCREMENTO DA SOLUBILIDADE NA TERAPIA ANTI-HIV**, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado por conter como sistema multicomponentes o efavirenz, a metil- β -ciclodextrina e a polivinilpirrolidona.
- 4. COMPLEXO DE INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES DE EFAVIRENZ PARA O INCREMENTO DA SOLUBILIDADE NA TERAPIA ANTI-HIV**, de acordo com as reivindicações 1, 2 e 3, caracterizado por aumentar a taxa de dissolução do efavirenz a nível gastrointestinal.
- 5. COMPLEXO DE INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES DE EFAVIRENZ PARA O INCREMENTO DA SOLUBILIDADE NA TERAPIA ANTI-HIV**, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizada por aumentar a biodisponibilidade do efavirenz.

RESUMO**Patente de Invenção: “COMPLEXO DE INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES DE EFAVIRENZ PARA O INCREMENTO DA SOLUBILIDADE NA TERAPIA ANTI-HIV”**

5 A presente patente refere-se à formulação do complexo de inclusão e sistema multicomponentes de efavirenz para o incremento da solubilidade na terapia anti-HIV. Esta patente refere-se a um produto farmacêutico que o principal componente é o insumo farmacêutico ativo efavirenz (EFZ) cuja estrutura química é o (S)-(-)-6-cloro-4-(ciclopropiletinil)-4-(trifluormetil)-2,4-dihidro-1H-3,1-benzoxazin-2-ona e os

10 excipientes metil- β -ciclodextrina (M- β -CD), em diferentes concentrações, e polivinilpirrolidonas (PVP K-30, PVP K-12, PVP K-15, PVP K-17, PVP K-25, PVP K-60, PVP K-90 e PVP K-120). O complexo de inclusão entre o EFZ e a M- β -CD demonstrou-se estável, observando-se eficiência na complexação e um incremento na solubilidade, que inicialmente era de 8-10 $\mu\text{g/mL}$ e aumentou para 70-80 $\mu\text{g/mL}$. Isto

15 pode ser justificado pela presença de grupos de metila, uma vez que estes grupos são importantes para o alargamento da cavidade das CDs, favorecendo um ambiente mais hidrofílico externamente e hidrofóbico internamente favorecendo a adaptabilidade dos fármacos, através de uma maior flexibilidade. Os sistemas multicomponentes entre o EFZ- M- β -CD e polivinilpirrolidonas levaram a um aumento da solubilidade do EFZ de

20 8-10 $\mu\text{g/mL}$ para 50-90 $\mu\text{g/mL}$.