



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00621**

(22) Data de depozit: **07/09/2017**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/05/2024** BOPI nr. **5/2024**

(41) Data publicării cererii:
30/07/2018 BOPI nr. **7/2018**

(73) Titular:

- **INSTITUTUL DE CHIMIE MACROMOLECULARĂ "PETRU PONI" DIN IAȘI, ALEEA GRIGORE GHICA VODĂ NR.41 A, IAȘI, IS, RO;**
- **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "GRIGORE T. POPA" DIN IAȘI, STR.UNIVERSITĂȚII NR.16, IAȘI, IS, RO;**
- **UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" DIN IAȘI, STR. PROF. DR. DOC. DIMITRIE MANGERON NR. 67, IAȘI, IS, RO;**
- **A&B PHARM CORPORATION S.A., STR.GAVRIIL MUSICESCU NR.5, MEZANIN, CAMERA 2, BL.7A, IAȘI, IS, RO**

(72) Inventatori:

- **TAMBA BOGDAN IONEL, STR.MARAMUREȘ NR.8, ROMAN, NT, RO;**
- **ANCUCEANU VIOREL ROBERT, STR.MOȚOC NR.2, BL.P3, SC.3, ET.4, AP.72, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**

- **HARABAGIU VALERIA, STR.PETRU CULIANU, NR.17, SAT VALEA LUPULUI, COMUNA VALEA LUPULUI, IS, RO;**
- **PEPTU CRISTIAN, ZAPODENI, VS, RO;**
- **ROTARU RĂZVAN, STR.STEJAR NR.83, IAȘI, IS, RO;**
- **PEPTU CĂTĂLINA ANIȘOARA, SAT MOIMEȘTI, COMUNA POPRICANI, IS, RO;**
- **STAN CORNELIU SERGIU, STR.ȚUȚORA NR.7C, BL.E3, SC.C, ET.3, AP.16, IAȘI, IS, RO;**
- **LEON-CONSTANTIN MARIA MAGDALENA, STR.ALISTAIR NR.2, IAȘI, IS, RO;**
- **ALEXA-STRATULAT TEODORA, STR.ANASTASIE PANU NR.17, BL.GHICA VODĂ NR.2B, AP.27, IAȘI, IS, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
EP 0838225 (A2); WO 95/05198

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNEI FORMULĂRI FARMACEUTICE CARE CUPRINDE SISTEME COMPLEXE PE BAZĂ DE LIDOCAINĂ, DERIVAȚI DE CICLODEXTRINĂ ȘI LIPOZOMI**



1 Invenția se referă la un procedeu de obținere de noi sisteme complexe pe bază de lidocaină și derivat de ciclodextrină esterificată cu proprietăți analgezice.

3 Sistemele complexe obținute prin încorporarea lidocainei în lipozomi prin încapsulare, în derivați de ciclodextrine drept complecși de incluziune sau în combinații inovative între
5 lipozomi și complecșii de incluziune cu ciclodextrine modificate cu secvențe oligoesterice, sunt o abordare de realizare a sistemelor de eliberare controlată, ușor adaptabilă în confi-
7 gurațiile de funcționare ale terapiei durerii. Formele de încapsulare ale lidocainei sunt incluse apoi în matrici polimerice sub formă de geluri pe bază de: chitosan, poloxamer, polixiloxani
9 modificați, ca și componente singulare sau în combinații. Introducerea complexului de lidocaină în aceste formulări conferă ansamblului creat proprietățile peliculogene și raportul
11 hidrofîl-hidrofob adecvat pentru eliberarea controlată, eficiență și susținută. Utilizarea complecșilor de incluziune în sisteme de tip rezervor facilitează transferul substanței prin tegu-
13 ment, îmbunătățind astfel, profilul farmacocinetic la nivelul pielii. Formulările astfel sintetizate întrunesc criteriile chimice, fizice, tehnologice și biomedicale necesare unei utilizări de
15 succes în domeniul terapiei transdermale a durerii.

17 Se cunosc o serie de analgezice topice cu aplicare locală de suprafață sub forma de gel, crema, spray, pansament, picături etc. folosite în funcție de procedura de urmat [**L. Brannon-Peppas, Polymers in Controlled Drug Delivery, Medical Plastics and Biomaterials Magazine, 1997**]. Primul produs disponibil comercial a fost TAC (Trad Analgesic Cocktail), o combinație de tetracaina, adrenalina (epinefrina) și cocaina, folosit în
19 analgezia dilacerațiilor (față și scalp) [**Pagina web: <http://en.wikipedia.org/wiki/Lidocaine/prilocaine>**], Ulterior, lidocaină a înlocuit cocaina, rezultând astfel, produsul LET (lidocaină, epinefrina și tetracaina), alternativa TAC cu o
21 toxicitate scăzută și un cost redus [**R.F.Wolff, ActaNeurol. Scand., 2011, 123(5), 295-309**]. În prezent, singurul anestezic local disponibil mondial pentru tegumentul integru este EMLA (Eutectic Mixture of Local Anesthetics) [**S. Kundu, Am. Fam. Physician., 2002, 66, 99-102**]
23 comercializată sub formă de emulsie 5% care conține un amestec eutectic de lidocaină/prilocaină în cantități egale. Întrucât, absorbția la nivelul pielii a produselor topice este foarte
25 variabilă, iar preparatele disponibile sunt absorbite superficial prin pielea intactă, penetrarea a fost îmbunătățită prin utilizarea amestecurilor eutectice (se topesc la temperaturi mai joase
27 comparativ cu cele ale componentelor individuale), preparatelor lipozomale (lidocaină încapsulată lipozomal: Ela-Max disponibilă în SUA), plasturilor percutanați (plasturele
29 percutanat cu lidocaină/tetracaină: Synera) [**K. Miller, AANA J., 2001, 69, 185-187**] sau prin aplicarea stratificată secvențială (lidocaina topică cu epinefrina: TLE) [**S. S. Davis, L. Illum, Int. J. Pharm., 176, 1998, 1-8**]. Iontoforeza poate fi, de asemenea aplicată, dar procedura
31 este costisitoare și poate produce disconfort datorită senzației electrice.

37 Agenții anestezici locali fac parte din clasa aminoamidelor și cuprind compuși precum: lidocaina, bupivacaina, prilocaina, mepivacaina și etidocaina. Lidocaina (LID) este
39 anestezic local cel mai frecvent utilizat datorită eficienței și rapidității de acțiune, lipsei toxicității și sensibilității. Lidocaina blochează canalele de sodiu voltaj dependente, oprește
41 descărcările ectopice ale fibrelor aferente fine, încetinește sensibilizarea nociceptivă periferică și hiperexcitabilitatea centrală. Lidocaina este disponibilă în multiple forme de
43 administrare, de exemplu, plasturii cu 5% (Lidoderm[®], Endo Pharmaceuticals Inc.) pentru tratamentul nevralgiei posterpetice și a altor sindroame neuropatice focale (mononeuropatii,
45 nevralgii intercostale și durere postamputație) în care tratamentul tradițional cu antidepressive triciclice, anticonvulsivante și opioizi eșuează [**R.M.Ottenbrite, K.Park, T.Okano, Biomedical Applications of Hydrogels Handbook, 1st Ed., Springer, 2010**]. Mai multe
47

RO 132702 B1

studii farmacocinetice au demonstrat că absorbția sistemică a plasturei cu lidocaina la adulții sănătoși este minimă când se aplică până la 4 unități în 12-24 h; rata de absorbție este mai joasă la pacienții cu nevralgie postherpetică care beneficiază de un plastru cu lidocaina pură sau combinată cu alți agenți. Nu au fost observate interacțiuni cu alte medicamente și utilizarea acestora nu duce la pierderea senzorială beta-mediată la locul de aplicare [K. Miller, AANA J., 2001, 69, 185-187]. Anestezicele topice, de exemplu, unguent compus din lidocaina 5%, hidroclorură de pramoxina 1% cu acetat de hidrocortizon 1%, spray de lignocaina alcoolică 5%, gel de lignocaină 1-5% și cincocaina 2%, au fost studiate pentru ameliorarea durerii perineale după naștere vaginală. Totuși, dovezile eficienței și ale efectelor pe termen lung au fost neconcludente.

În ultimii ani, administrarea de agenți adjuvanți împreună cu anestezicul local, cum ar fi, epinefrina, clonidina și dexametazona a fost raportată ca o modalitate viabilă de prelungire a acțiunii anestezicelor. O altă măsură, implică utilizarea matricelor de eliberare, cum ar fi lipozomii, microemulsii, microsferile, microcristalele, hidrogelurile reticulate și/sau termosensibile, nanogelurile termosensibile, nanoparticulele, soluțiile apoase de polimeri, matricele polimerice de tip lichid sau solid, filmele bioadezive, rețelele polimerice interpenetrate, particulele de tip lipidă-proteină-zahăr, polimeri pe bază de dimeri ai acizilor grași și granulele ceramice [Y. J. Jang, J. H. Lee, T. B. Seo, S. H. Oh, Eur. J. Pharm. Biopharm., 2017, 115, 113-121].

Conform literaturii de specialitate dezvoltarea sistemelor pe bază de anestezici locali reprezintă un domeniu cu potențial de dezvoltare semnificativ, datorită complexității acestora, cu aspecte încă neelucidate.

Sistemele cu eliberare controlată sunt dispozitive capabile să încorporeze și livreze organismului uman o anumită cantitate de substanță activă, în scopul obținerii unui efect terapeutic crescut prin controlul ratei și timpului de eliberare, precum și locul de acțiune. Obiectivul principal al sistemelor cu eliberare controlată este menținerea unei concentrații constante a compusului biologic activ, care ar trebui să fie între concentrația minimă efectivă și cea toxică pe o perioadă lungă de timp.

În dezvoltarea sistemelor de administrare percutanată există o serie de factori care modulează cinetica de eliberare a compusului biologic activ încapsulat într-un vehicul de eliberare controlată, cum ar fi: structura chimică a moleculei imobilizate, tipul rețelei polimerice care realizează vehiculul, aditivii utilizați pentru obținerea sistemului și posibilele interacțiuni chimice [A.F. Rogobete, M. Dragomirescu, O.H. Bedreag, D. Sandesc, CA. Cradigati, M. Sarandan, M. Papurica, S.E. Popovici, C. Vernic, G. Preda, Trends Anaesth. Crit. Care, 2016, 9, 27-34]. Astfel, datorită standardelor clinice crescute, pentru ca un sistem cu eliberare controlată să fie viabil, trebuie să respecte cerințele de selectivitate, biodisponibilitate, biodegradabilitate, toxicitate redusă, bioactivitate crescută, timp prelungit de acțiune și costuri reduse.

Lipozomii, cele mai utilizate sisteme cu eliberare controlată, sunt vezicule lipidice care încadrează pe deplin un volum apos. Aceste particule coloidale sunt constituite în mod obișnuit din fosfolipide cu sau fără aditivi și sunt formate din straturi concentrice biomoleculare, capabile să încapsuleze medicamente. Lipozomii acționează prin penetrarea epidermei, transportând medicamentul prin straturile pielii în circulația periferică. Pentru a crește gradul de utilizare a acestora, literatura relatează folosirea unei varietăți de polimeri, cei mai utilizați fiind poli-(etilen glicol) (PEG), poli-(N-vinil-piroidonă) (PVP), poli-(vinil alcool) (PVA), polioxazolin (Pox) sau poli-(acid acrilic) (PAA).

1 Polimerii folosiți în sistemele de administrare percutanată trebuie să fie biocompatibili
și compatibili chimic cu medicamentul și alte componente ale sistemului, precum stimulatorii
3 de penetrare, să asigure o livrare eficientă și constantă a medicamentului pe toata durata
perioadei de administrare și de valabilitate a preparatului [C. Valența, B.G. Auner, Eur. J.
5 **Pharm. Biopharm.**, 58, 2004, 279-289].

Chitosanul, derivatul diacetilat al chitinei, are numeroase proprietăți precum biocom-
7 patibilitatea, biodegradabilitatea, nontoxicitatea și activitatea antimicrobiană. Chitosanul are
proprietățile necesare pentru a fi folosit drept excipient farmaceutic, fiind utilizat în studiile
9 de eliberare controlată și țintită a majorității claselor de molecule bioactive. Aceste proprietăți
fac din chitosan unul dintre cei mai promițători biopolimeri în ingineria tisulară, prepararea
11 pansamentelor pentru plăgi, terapie genică și transport de medicamente [T. Aoyagi, R.
Tadenuma, Y. Nagase, **Macromol. Chem. Phys.**, 1996, 197, 677-686]. În ultimii ani au fost
13 întreprinse eforturi considerabile pentru a îmbunătăți proprietățile tehnice ale chitosanului
prin derivare. De exemplu, hidrogelurile chitosan-laurat și chitosan-miristat îmbunătățesc
15 difuzia medicamentului liofilizat la nivelul pielii în raport cu hidrogelurile chitosan-palmitat și
chitosan-stearat. Acest fapt poate fi explicat prin interacțiunea hidrogelurilor cu stratul
17 cornos, crescând astfel, solubilitatea medicamentului la nivelul pielii [J.J. Escobar-Chavez,
M. Lopez-Cervantes, A. Naik, Y.N.Kalia, D.Quintanar-Guerrero, A. Ganem-Quintanar,
19 **J. Pharm. Pharmaceut. Sci.**, 2006, 9, 339-345].

Polisiloxanii, sunt polimeri sintetici intens studiați pentru aplicații biomedicale.
21 Oligodimetilsiloxani (ODMS) substituiți cu 2-pirolidona la un capăt al lanțului, au dovedit
abilități de potențator al penetrării transdermice. Activitatea de potențare este influențată de
23 lungimea catenei macromoleculare siloxanice și de structura chimică a grupărilor finale.
Raportul între lanțul hidrofob și gruparea finală polară este deasemenea un factor decisiv
25 pentru activitatea de potențare a penetrării medicamentelor [C. He, S.W. Kim, D.S. Lee, J.
Controlled Release, 2008, 127, 189-207].

Poloxamerii, sunt copolimerii tribloc poli(etilen oxid-propilen oxid) (PEO-PPO-PEO),
cunoscuți și sub numele de Pluronic®, cu proprietăți tensioactive, utilizați pe scară largă în
29 sistemele farmaceutice. Soluțiile apoase concentrate de Pluronic prezintă două tranziții de
fază termo-reversibile odată cu creșterea temperaturii: tranziția sol-gel și gel-sol. Hidro-
31 gelurile pe bază de Pluronic prezintă o vâscozitate considerabilă, o rigiditate parțială și o
oarecare persistență în timp, datorită împachetării în structuri micelare ordonate și
33 întrepătrunderilor intermicelare. Încapsularea lidocainei în nanoparticulele biodegradabile de
Pluronic F-127- policaprolactona determină, de exemplu, anestezie de infiltrație prelungită
35 la șobolani fără toxicitate severă, indicând o posibilă cale de dezvoltare a unor anestezice
locale persistente în timp [E. Fishbeine, Y. Meshulam, R.Sahar, S. Chapman, H. Liani, I.
37 **Barness, A. Amir, J. Appl. Toxicol.**, 2000, 1, 133-136; T.Grațieri, G.M. Gelfuso, E.M.
Rocha, V.H. Sarmiento, O. de Freitas, R.F.V. Lopez, Eur. J. Pharm. Biopharm., 2010, 75,
39 **186-193**]. Unguentele cu conținut de lidocaină sau pentamidă pe bază de Pluronic F-127
aplicate topic pe pielea de porc s-au dovedit a produce efecte benefice [G. Niu, F.Du, L.
41 **Song, H. Zhang, J. Yang, H.Cao, Y. Zheng, Z. Yang, G. Wang, H. Yang, S. Zhu, J.**
Control. Release, 2009, 138, 49-56].

Fezabilitatea strategiilor de eliberare bazate pe geluri de poloxamer este limitată de
43 dizolvarea relativ rapidă în condiții fiziologice. Au fost explorate diverse soluții pentru depăși-
45 rea acestui inconvenient, concentrându-se pe îmbunătățirea rezistenței, adeziunii și timpului
de permanență a sistemelor poloxamerice, fie prin modificarea structurilor lor, fie prin
47 încorporarea substanțelor polimerice mucoadezive precum chitosanul care prezintă o bună

biocompatibilitate și biodegradare [A. Sosnik, D. Cohn, J.S. San Roman, G.A. Abraham, J. Biomater. Sci. Polym. Ed., 2003, 14,227-239; T. Ur-Rehman, Int. J. Pharma., 2011, 409, 19-29; R. New, Liposomes. A Practicai Approach, Oxford University Press, 1990; T.Loftsson, P. Jarho, M. Másson, T. Järvinen, Expert Opinion on Drug Delivery, 2005, 2(2), 335-351].

Ciclodextrinele (CD) sunt utilizate în special pentru îmbunătățirea solubilității în apă și a stabilității medicamentelor. Ciclodextrinele de relevanță farmaceutică conțin 6, 7 sau 8 molecule de dextroza (α -, β -, γ -ciclodextrină) legate într-o configurație 1,4 pentru a forma inele de diferite diametre sau derivați de β -ciclodextrină cu solubilitate crescută în apă, cum este hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β -CD). Moleculele ciclice au un exterior hidrofil și o cavitate lipofilă în care moleculele organice cu dimensiuni corespunzătoare pot fi incluse pentru a forma complecși de incluziune necovalenți, cu solubilitate crescută în medii apoase. Un studiu de literatură recent [B. McCormack, G. Gregoriadis, Int. J. Pharm., 1994, 112, 249-258] analizează influența concentrației CD asupra capacității de penetrare transdermală a complecșilor CD-medicament. Penetrarea scade cu creșterea concentrației CD. Îmbunătățirea penetrării pielii de către ciclodextrine a fost atribuită, de asemenea, și extracției lipidelor din stratul comos [B. McCormack, G.J. Gregoriadis, Drug Target., 1994, 2, 449-454].

Conceptul asocierii CD-urilor cu lipozomi constă în încapsularea complexului de incluziune CD-medicament în lipozomi, combinând astfel avantajele oferite de CD (creșterea solubilității medicamentelor), și de lipozomi (acțiunea țintită a medicamentelor și creșterea permeabilității) într-un singur sistem, evitând astfel problemele asociate cu fiecare sistem în parte [H. Chen, J. Gao, F. Wang, W. Liang, Drug Delivery, 14 (4), 201-208; G. Ragnoa, E. Cione, A. Garofalo, G. Genchi, G. Ioele, A. Risoli, A. Spagnoletta, Int. J. Pharm., 2003, 265, 125-132; F. Maestrelli, M.L. González-Rodríguez, A.M. Rabasco, P. Mura, Int. J. Pharm., 2005, 298(1),55-67; N. Shufang, W.L. Hsiao, P. Weisan, Int. J. Nanomed., 2011, 6, 151-166]. De exemplu, complexarea ketoprofenului cu CD a crescut solubilitatea medicamentului, și a îmbunătățit stabilitatea încapsulării în fază apoasă internă a veziculei, conferind un control mai bun al eliberării acestuia fără a modifica proprietățile de permeabilitate prin piele [M.T. Popescu, S. Mourtas, G. Pampalakis, S.G. Antimisiaris, C. Tsitsilianis, Biomacromolecules, 2011, 12, 3023-3030]. O abordare diferită implică încorporarea medicamentelor lipozomale în gelul F127, crescând astfel, cantitatea de medicament încorporat și eliberarea lentă a medicamentului în comparație cu gelul pur. De aceea, un sistem conținând atât F127, cât și lipozom este de mare interes pentru a combina proprietățile de termogelificare ale F127 și abilitățile transportoare ale lipozomului. În primul rând, viteza dorită de eliberare a medicamentului din această formula de gel lipozomal ar putea fi obținută prin încorporarea unei cantități optime de lipozomi conținută în gel, în loc de creșterea concentrației F127. Lipozomul poate reprezenta nu numai un mod de a crește încărcătura medicamentelor lipofilice în geluri, dar poate și acționa ca un rezervor pentru eliberarea lentă și constanta a medicamentului [M. Bonacucina, M.F. Spina, M. Cespi, S. Pucciarelli, M. Angeletti, G.F. Palmieri, Eur. J. Pharm. Sci., 2007, 3 (2), 115-122; L. Nogueiras-Nieto, C. Alvarez-Lorenzo, I. Sandez-Macho, A. Concheiro, F.J. Otero-Espinar, J. Phys. Chem. B, 2009, 113, 2773-2782].

Caracterul hidrofil/hidrofob al sistemele de administrare percutanată determină o variație a structurii și a procentului polimerilor în compoziția peliculelor, pentru un control eficient al caracteristicile de eliberare a medicamentului. Prezența hidroxipropyl- β -ciclodextrinei (HP β -CD) în gelurile de poloxamer afectează atât temperaturile de gelificare și

1 micelizare cât și elasticitatea probelor finale prin schimbarea deosebită a microstructurii
2 probelor gelificate. Această influență reciprocă a deschis calea explorării câtorva sisteme
3 poloxamer 407/HP β -CD pentru a crea diverse sisteme de administrare percutanată, care
4 reunesc bine cunoscutele proprietăți ale ciclodextrinei și comportamentul de termogelificare
5 al poloxamerului [F. Castiglione, M. Valero, CA. Dreiss, A. Mele, J. Phys. Chem. B, 2011,
6 115, 9005-9013; F. van de Manacker, T. Vermonden, C.F. van Nostrum, W.E. Hennink,
7 Biomacromolecules, 2009, 10, 3157-3175; C. Peptu, A. Nicolescu, CA. Peptu, V.
8 Harabagiu, B.C Simionescu, M. Kowalczyk, J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem., 2010,
9 48, 5581-5592].

10 Printre aceste opțiuni, sistemul de administrare pe bază de lipozomi Exparel[®],
11 lipozom multivezicular pe bază de bupivacaină, a fost aprobat pentru uz uman. Concluziile
12 studiului pe modelul șobolan au dovedit eficiența sistemului: durata de acțiune de blocare
13 a nervului sciatic a fost aproximativ dublă (4 h, față de 2 h cu bupivacaină), datorită eliberării
14 susținute a bupivacainei din lipozomi [Y.J. Jang, J.H. Lee, T.B. Seo, S.H. Oh, Eur. J.
15 Pharm. Biopharm., 2017, 115, 113-121].

16 Cele mai relevante studii pentru prezenta invenție sunt prezentate în continuare.
17 Abdelkader și alții [D.H. Abdelkader, M.A. Osman, S.A. El-Gizawy, A.M. Faheem, P.A.
18 McCarron, Int. J. Pharm., 2016, 500, 326-335] au sintetizat hidrogeluri cu potențiale aplicații
19 analgezice în rănilor traumatiche, compuse din alcool polivinilic reticulat cu anioni de
20 tetrahidroxiborat și diferite concentrații de lidocaină clorurată. Rezultatele obținute au arătat
21 că hidrogelurile nu induc un efect anestezic rapid datorită gradului redus de încorporare și
22 cineticii de eliberare scăzute. Anirudhan și alții [T.S. Anirudhan, S.S. Nair, Anoop S. Nair,
23 Carbohyd. Polym., 2016, 152, 687-698] au obținut un nou plasture transdermal pe bază de
24 lidocaină dispersată uniform într-o matrice polimerică complexă ce conține acid hialuronic
25 legat covalent cu 3-(dimetilamino)-l-propilamină și chitosan grefat cu glicidil metacrilat și butil
26 metacrilat. Studiile de eliberare *in vitro* au arătat posibilitatea utilizării acestui dispozitiv
27 medical doar la pH 5,5 cu o cinetică de eliberare de până la 56% în primele 12 h, urmat de
28 un platou până la 24 h. Un studiu mai recent dezvoltă un anestezic local injectabil sub formă
29 de gel pentru managementul durerii post-operatorii, bazat pe lidocaină și un amestec de
30 poliamină-b-poli(etilen glicol)-b-poliamină cu radicali nitroxidici legați de lanțurile de poliamine
31 prin interacțiuni electrostatice sub forma miceliilor. Efectul îndelungat și accentuat rezultat
32 în urma studiilor *in vivo* au demonstrat eficiența sistemului [Y. Nagasaki, Y. Mizukoshi,
33 Z.Gao, CP. Feliciano, K. Chang, H. Sekiyama, H. Kimura, Acta Biomaterialia, 2017, 57,
34 127-135]. Un complex de lidocaină și ioni multivalenți a fost sintetizat în scopul obținerii unui
35 sistem anestezic cu efect prelungit. Rezultatele experimentelor *in vitro* și *in vivo* au indicat
36 faptul că acest complex facilitează eliberarea prelungită a lidocainei chiar și fără adjuvanți,
37 asigurând astfel blocarea nervului pentru o durată lungă de acțiune (> 14 h) fără o creștere
38 suplimentară a neurotoxicității [Y.J. Jang, J.H. Lee, T.B. Seo, S.H. Oh, Eur. J. Pharm.
39 Biopharm., 2017, 115, 113-121].

40 Cererea de brevet EP 0838225 (A2) (23.10.1997) prezintă o soluție apoasă de
41 anestezic local având un pH de 6,5-8,5, care conține un anestezic local inclus în ciclo-
42 dextrină sau un derivat al acesteia într-o concentrație de anestezic local de cel puțin 0,02%,
43 o metodă pentru îmbunătățirea solubilității anestezicului local în apă la un pH de 6,5-8,5,
44 cuprinzând includerea anestezicului local în ciclodextrină sau un derivat al acestuia, un agent
45 anestezic local cuprinzând un compus de includere a anestezicului local în ciclodextrină sau
46 un derivat al acestuia, o metodă pentru scăderea neurotoxicității agentului anestezic local,
47 cuprinzând includerea anestezicului local în ciclodextrină sau un derivat al acesteia și un

RO 132702 B1

compus de includere a anestezicului local în ciclodextrină sau un derivat al acestuia. Agentul anestezic local și soluția apoasă de anestezic local din prezenta invenție au neurotoxicitate scăzută, astfel încât durata anesteziei poate fi controlată clinic în condiții de siguranță prin reducerea/creșterea concentrației sau dozei acesteia. În special, soluția apoasă de anestezic local poate fi utilizată la un pH apropiat de cel al unui corp viu. Astfel, poate fi folosit chiar și atunci când țesutul viu are un pH acid. Mai mult, durerea cauzată de acidoza locală la locul injectării cu un anestezic local convențional dizolvat într-o soluție acidă poate fi redusă.

WO 95/05198 (23.02.1995) prezintă un preparat anestezic local care cuprinde un agent anestezic local și 2-hidroxiopropil-beta-ciclodextrină (CDEX). În general, agentul anestezic local este sub forma unei formulări convenționale apoase, iar CDEX este prezent într-o concentrație de 0,01-15%, de preferință 0,02-10%. Utilizarea 2-hidroxiopropil-beta-ciclodextrinei pentru prepararea unui preparat anestezic local, precum și a unei metode de producere a anesteziei locale la un mamifer, inclusiv la om, sunt de asemenea descrise.

În ciuda rezultatelor promițătoare privind prelungirea duratei anesteziei prin utilizarea adjuvanților și matricilor de eliberare, anumite obstacole trebuie să fie depășite înainte ca acești agenți să fie aplicați pe scară largă. Astfel de obstacole includ durata insuficientă de acțiune și faptul că efectele anestezicului nu sunt reproductibile datorită diferitelor tipare de eliberare cu fiecare lot de fabricație.

Principalele dezavantaje ale analgezicelor topice complexe pe bază de lidocaină raportate până în prezent limitează succesul terapeutic prin:

- eficiența variabilă (în funcție de doză și timp);
- efecte sistemice și deteriorarea cognitivă;
- toxicitatea variabilă pe o perioadă lungă de timp;
- impermeabilitatea percutanată redusă datorată variabilității absorbției produselor topice;

- durata scăzută de acțiune și necesitatea administrării dozelor repetate, care pot produce infecții, dureri musculare etc.

Cele mai asemănătoare sisteme complexe pe bază de anestezice locale pentru terapia transdermală a durerii au fost realizate astfel:

- anestezic local cu efect pronunțat și durata extinsă de acțiune compus din lidocaină (2-5% în soluție salină) sau bupivacaina (0,5-0,75% în soluție salină) complexat cu 2-hidroxiopropil-p-ciclodextrina (grad de substituție 40% și concentrație de 0,02-10%) [**F.M. Borgbjerg, Local Anaesthetic preparation, WO 95/05198, 1995**];

- soluții apoase pe bază de anestezice locale de tipul, lidocainei, bupivacainei, dibucainei sau tetracainei (sub formă de acid sau sare, concentrație cuprinsă în 0,02-0,05%) complexate cu: ciclodextrina sau derivați ai acesteia și acidul salicilic, încorporat cu scopul îmbunătățirii efectului anestezic pe o perioadă îndelungată de timp [**Hiji, Yasutake, Aqueous local anesthetic solution, EP 0838225 A2, 1997**].

- complex bazat pe incluziunea benzocainei în γ -ciclodextrină în vederea formulării unui anestezic local pentru ameliorarea durerii de suprafață [**J.P. Moldenhauer, New inclusion complexes of benzocaine in gamma-cyclodextrin, useful as non-volatile local anesthetics, e.g. for alleviating surface pain, DE 10033059 A1, 2000**].

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unor sisteme complexe derivate pe bază de lidocaină cu proprietăți analgezice, care să permită îmbunătățirea complianței pacienților față de tratamentul medical prin ameliorarea durerii, cu mai puține efecte adverse asupra sistemului nervos central și un regim medicamentos minim, eficientizarea dozei medicamentelor între siguranță și eficiență prin terapie medicamentoasă individualizată, precum și posibilitatea administrării controlate.

RO 132702 B1

1 Procedeu de obținere a unei formulări farmaceutice cu proprietăți analgezice
cuprinzând sisteme complexe pe bază de lidocaină, derivați de ciclodextrină și lipozomi, con-
3 form invenției, înlătură dezavantajele prezentate mai sus prin aceea că:

5 - se formează lipozomii unilamelari/multilamelari pe bază de fosfolipide singulare sau
în combinații de tipul glicerofosfolipidelor, alese dintre fosfatidilcolină, fosfatidiletanolamină,
7 fosfatidilserină, fosfatidilinozitol, cardiolipine și sfingofosfolipide și/sau colesterol și/sau
derivați ai acestora, urmată de hidratarea acestor lipozomi cu o soluție de lidocaină
încorporată în derivatul de ciclodextrină obținut prin:

9 - modificarea α -, sau β -, sau γ -ciclodextrinei, de preferință β -ciclodextrina cu
secvențe de oligoesteri prin reacția de deschidere a ciclului lactidei, cu formarea unui produs
11 ce conține un număr de unități de lactidă cuprins între 1...21, de preferință 1...4 unități de
lactidă înșiruite;

13 - incluziunea lidocainei printr-un procedeu de malaxare în sistem deschis cu
stoichiometria de complexare cuprinsă în domeniul 0,5...1,5 cu o valoare optimă de 1:1;

15 - are drept rezultat obținerea unui sistem complex care determină creșterea
solubilității lidocainei în medii apiase, creșterea biodisponibilității și o toxicității la o valoare
17 situată sub pragul legal stabilit în cazul utilizării ca sistem de eliberare transdermală a
medicamentelor de uz extern.

19 Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:

21 - eliberarea controlată a lidocainei („burst effect” - efect anestezic pronunțat în
intervalul 0-20 min urmat de eliberare controlată până la 100 min, demonstrat prin curba de
eliberare *in vitro*) și administrarea nedureroasă a diverselor preparate medicamentoase
23 (geluri);

25 - capacitate îmbunătățită de încorporare a lidocainei (încapsulare în lipozomi și CD);

27 - toxicitate redusă datorită compușilor de formare a vehiculelor (screening animale
utilizate în studiu);

29 - timp rapid și îndelungat de acțiune comparativ cu compusul de bază (eliberare *in
vitro*, efect analgezic/anestezic determinat prin stimulare nociceptivă cu ajutorul testelor:
placa încinsă, placa rece și algezimetric);

31 - costuri reduse de utilizare la scară largă (materiale de sinteză cu cost redus);

33 - metode inovative, ușor adaptabile de încapsulare a lidocainei.

35 Soluția la problema tehnică propusă constă în dezvoltarea unor formulări medica-
mentoase bazate pe combinarea unei multitudini de potențiatori de penetrare (ciclodextrine
modificate cu secvențe oligoesterice, lipozomi, polisiloxani funcționalizați) capabili să crească
37 biodisponibilitatea și difuzivitatea lidocainei în straturile pielii prin mecanisme diferite. Lido-
caina este încapsulată inițial în lipozomi, derivați de ciclodextrine drept complecși de
incluziune și, de asemenea, într-o combinație inovativă între lipozomi și complecșii de inclu-
ziune, care apoi este introdusă într-o matrice de gel polimeric (chitosan, polixiloxani, polo-
39 xamer) proiectată în mod specific pentru a asigura echilibrul hidrofil/hidrofob adecvat și
aderența la piele. Întreg ansamblul va fi capabil să livreze transdermal compusul analgezic
41 într-o manieră eficientă și susținută. Noutatea invenției constă în utilizarea ciclodextrinelor
modificate cu oligoesteri pentru încapsularea lidocainei, tehnica neutilizată în acest scop
43 până la momentul actual.

45 Conform invenției, etapa inițială de obținere a sistemelor complexe pe bază de lido-
caină implică încorporarea medicamentului în lipozomi, în derivați de ciclodextrine (complecși
de incluziune) și într-o combinație între lipozomi și complecșii de incluziune. Acești compuși
47 reprezintă baza compoziției formulărilor farmaceutice care să permită aderența la piele,
transportul controlat și nontoxicitatea, în condițiile difuziei locale a principiului activ.

RO 132702 B1

Descrierea procedeelelor de încorporare a lidocainei:	1
- <i>sisteme complexe de tip CDLA-LID:</i>	
Inițial, compusul CD a fost modificat cu secvențe de oligoesteri alifatici grefați pe grupări hidroxil prin reacția de oligomerizare de tip deschidere de ciclu a lactidei inițiată de β-ciclodextrină, cu un raport molar de unități de lactida/ciclodextrină de 3, obținând astfel, ciclodextrină modificată cu unități de oligolactidă (CDLA) cu mase moleculare de 1566 g/mol.	3 5
Reacția de oligomerizare a fost demonstrată prin analiza spectrelor ¹ H RMN și ESI-MS (fig. 1, 2). Se observă că ciclodextrină a fost funcționalizată cu un număr variabil de unități de lactidă de la 1 (2 unități de acid lactic) [1296 = 1134(CD) + 144(LA) + 18(NH ₄ ⁺)] la 6 (12 unități de acid lactic) [2016 = 1134 + 144 · 6 + 18]. Astfel, lungimea medie a lanțurilor de oligolactidă este de 6 unități de acid lactic.	7 9 11
Prepararea complexelor CDLA-LTD implică optimizarea procedurii de amestecare mecanică, și anume, malaxare în sistem deschis și măcinare în moara cu bile în sistem închis. Conform rezultatelor obținute, procedeul de malaxare în sistem deschis a fost considerat optim, deoarece, măcinarea în moara cu bile în sistem închis nu a permis evaporarea succesivă a solvenților în timpul amestecării, astfel, au apărut complicații suplimentare la faza de separare a complexelor, iar produsele rezultate au constat în amestecuri de complexe CDLA-LTD și componenți liberi.	13 15 17
Într-o procedură experimentală tipică, soluțiile de CDLA (M = 1566 g/mol; 173,3 g în amestec de 200 mL etanol de uz farmaceutic și 66,7 mL apă distilată) și LID (M = 234,34 g/mol; 26,7 g în 135 mL etanol) au fost preparate în două vase separate, prin agitare (agitator ancora, 200 rot/min) timp de 10 min. Soluția de LID a fost apoi adăugată încet timp de 10 min, sub agitare continuă peste soluția de CDLA. Amestecul a fost transferat într-un malaxor cu capacitatea de 1 L și malaxat timp de 2 h la temperatura de 25°C, în sistem deschis. După aproximativ 30 min de malaxare, soluția devine lăptoasă și la sfârșitul perioadei de malaxare capătă aspect de pastă semisolidă prin pierderea progresivă a solvenților. A urmat uscarea acesteia în etuva de vid (0,1 mm Hg) la 40°C, timp de 6 h care a condus la formarea unei pulberi fine de complex CDLA-LTD, cu un randament de 98% datorat hidrolizei parțiale a CDLA în timpul procesului de complexare și pierderii prin evaporare a unei cantități din acidul lactic astfel format, pe parcursul procesului de uscare. Parametrii luați în considerare, și anume, timpul de malaxare, temperatura și perioada de uscare sub vacuum, pentru realizarea cu succes a procesului de obținere a complexelor CDLA-LTD au fost optimizați în urma testelor efectuate.	19 21 23 25 27 29 31 33
Compoziția CDLA/LID a fost dovedită la nivel molecular prin spectrometrie RMN (fig. 3) și prin fragmentare MS/MS (fig. 4A și 4B). Astfel, în spectrul RMN sunt vizibile picurile de rezonanță ale tuturor componentelor, iar din spectrul MS/MS se observă că fragmentarea ionului părinte cu m/z = 1657 [1657 = 1134(CD) + 144 · 2(LA)234(LID) + 1(H ⁺)] conduce la apariția unui fragment având masa LID [235 = 234(LID) + 1(H ⁺)] confirmând includerea LID în CDLA.	35 37 39
Solubilitatea LID în apă crește considerabil în prezența CDLA, după cum se poate observa din diagrama de solubilitate din fig. 5A. De asemenea, stoechiometria de complexare a fost determinată ca fiind 1:1 după cum rezultă din fig. 5B construită cu ajutorul curbei de etalonare (dependenta absorbantei UV a LID de concentrația LID în apă, R = 0,999). Constanta de stabilitate a complexelor de incluziune a fost determinată ca fiind ~ 1,8 · 10 ⁵ M ⁻¹ .	41 43 45
- <i>sisteme complexe de tip LID- lipozomi si CDLA-LID- lipozomi</i>	

RO 132702 B1

1 Complecșii de incluziune CDLA-LID au fost încorporați în sisteme de tip rezervor
(lipozomi). Două tipuri de lipozomi, unilamelari mici (SUV) și cu vezicule multilamelare (MLV)
3 au fost obținuți și utilizați datorită simplității și reproductibilității procedeele de preparare prin
hidratarea filmelor lipidice urmată de sonicare sau extrudare. În faza apoasă a ambelor tipuri
5 de lipozomi s-au dispersat complecșii de incluziune de tip CDLA-LID, dovedind dependența
de încapsulare a complecșilor în funcție de tipul de lipozomi utilizați. Drept lipide s-au utilizat
7 atât fosfolipidele (fosfatidil colina) precum și combinații între fosfolipide și colesterol, acesta
din urmă fiind introdus cu scopul principal de a îmbunătăți stabilitatea lipozomilor în timp. Atât
9 lipozomii obținuți cât și sistemele complexe de tip lipozomi/ciclodextrină-lidocaină au fost
caracterizați fizico-chimic, demonstrând fezabilitatea procedurii de obținere. Forma și
11 lamelaritatea au fost determinate prin tehnici de microscopie SEM evidențiind un diametru
mediu de 2,150 μm pentru lipozomii MLV (fig. 6).

13 Într-o primă etapă, lipozomii multilamelari (MLV) au fost preparați prin metoda
hidratării filmelor lipidice subțiri. Pentru aceasta, 100 mg de lipide (60 mg fosfolipide (PC
15 (fosfatidil colina) sau DSPC (1,2-distearoil-sn-glicerol 3-fosfolipid) și 40 mg colesterol (Chol)
se dizolvă în 10 mL amestec clorofom/metanol (2/1, v/v), puritate 99,5%). Amestecul de
17 solvenți este apoi evaporat sub vacuum dintr-un balon cu fundul rotund cuplat la un
evaporator până când se formează un film subțire de lipide. Filmul lipidic este apoi hidratat
19 cu un anumit volum de soluție tampon fosfat sau cu soluție de LID sau CDLA-LID (10 mL
soluție de LID-CDLA de concentrație 52,5 mg/mL). Hidratarea filmului lipidic se realizează
21 la o temperatură de 25°C în cazul utilizării PC sau de 60°C pentru DSPC. După completa
hidratare, în timpul căreia se formează lipozomii, suspensia de lipozomi este apoi supusă
23 ultrasonării pe o baie de ultrasonare timp de 30 min pentru eliminarea agregatelor. Lipozomii
MLV sunt apoi purificați prin cicluri repetate de centrifugare/spălare.

25 Lipozomii (SUV) au fost preparați prin ultrasonarea suspensiei de lipozomi de tip MLV
cu ajutorul unei sonde de sonicare timp de 1-2 cicluri până când suspensia devine complet
27 transparentă. Suspensia de lipozomi SUV a fost apoi centrifugată la 15000 rpm timp de 10-
15 min cu scopul precipitării fragmentelor de titan rezultate prin desprinderea din sonda de
29 ultrasonare din cauza intensității mari utilizate. În final lipozomii au fost incubați timp de 1-2
h la o temperatură peste temperatura de tranziție termică (25°C pentru PC și 60°C pentru
31 DSPC) pentru normalizarea defectelor structurale din membranele lipozomale. Separarea
lipozomilor de LID neîncapsulată a fost realizată prin centrifugare în cazul MLV (3 cicluri la
33 15 000 rpm timp de 40 min) și prin cromatografia de excludere a masei moleculare (SEC)
utilizând o coloană de 1 x 30 cm Sephadex G-50 eluată cu soluție tampon fosfat, pH 7,4.
35 Lipozomii au fost apoi stocați la o temperatură de 4°C înainte de utilizare.

Lipozomii au fost studiați din punct de vedere al dimensiunii și al distribuției
37 dimensionale iar rezultatele considerate optime sunt prezentate în tabelul 1. Datorită
solubilității complexului CDLA-LID în apă și distribuției acestuia în interiorul compartimentului
39 apos al lipozomilor, nu există variații de dimensiune între lipozomii simpli și cei încărcăți.
Studiile de morfologie au fost efectuate doar pe lipozomii de tip MLV, lipozomii de tip SUV
41 nu au putut fi analizați prin microscopie electronică de baleiaj din cauza instabilității acestora.
Fig. 6 și 7 compară morfologia lipozomilor MLV puri și încărcăți cu CDLA-LID.

RO 132702 B1

Distribuția dimensională a lipozomilor

Tabelul 1

Compoziția în lipide	Diametrul mediu (nm)	
	Lipozomi SUV	Lipozomi MLV
PC-Chol	112 (\pm 5,6)	2250 (\pm 45,8)
DSPC-Chol	132 (\pm 6,3)	3347 (\pm 73,2)

În continuare sunt prezentate 4 exemple de realizare a invenției în legătură cu fig. 1...12 care reprezintă:

- fig. 1, spectrul ^1H -RMN al compusului CDLA;
- fig. 2, spectrul ESI-MS al compusului CDLA;
- fig. 3, spectrele ^1H -RMN ale LID, CDLA și CDLA-LID,
- fig. 4, spectrul ESI MS/MS în care se observă fragmentarea ionului părinte cu $m/z = 1657$ al sistemului complex CDLA/LID;
- fig. 5. A, diagrama de solubilitate a LID în prezența CDLA; B: Diagrama Job a sistemului CDLA-LID;
- fig. 6, imagine SEM a lipozomilor MLV;
- fig. 7, microfotografii SEM ale lipozomilor de tip MLV încărcăți cu CDLA-LID;
- fig. 8, eficiența de eliberare a lidocainei *in vitro*;
- fig. 9, morfologia gelurilor Pol/Chi;
- fig. 10, morfologia gelurilor Pol/Chi/Psi;
- fig. 11, teste algezimetrice pe EMLA și Chi/CDP-LID;
- fig. 12, studiu comparativ pe șobolani tratați cu derivați CDLA-LID la testele Hot plate și Cold plate.

Exemplul 1

Sisteme lichide de complecși CDLA-LID integrate într-un gel de chitosan

Administrarea transdermală și efectuarea studiilor de analiză preclinică, implică integrarea complecșilor CDLA-LID în geluri pe bază de chitosan. Studiile preliminare au luat în considerare obținerea de preparate sub formă de soluție. LID și CDLA-LID au fost dizolvați în soluții cu pH acid de 2% chitosan (Chi, vâscozitate Brookfield, 200000 cPs; grad de deacetilare de aproximativ 80%) și 2% acid lactic. Au fost preparate soluții cu LID în concentrații de până la 5%. S-a constatat o disoluție totală a LID precum și a complecșilor de tip CDLA.

Exemplul 2

Sisteme solide de complex CDLA-LID integrate în gel de chitosan (CHI/CDLA-LID)

Administrarea transdermală a complecșilor CDLA-LID presupune încorporarea acestora într-o formulare farmaceutică care să permită aderența la piele în condițiile difuziei locale a principiului activ și stabilitatea la stocare a preparatului. Procesul de obținere a unui produs final în stare solidă implică dispersarea a 200 g complex CDLA-LID prin agitare (agitator ancoră, 300 rot/min), timp de 10 min, la temperatura camerei în 540 g soluție apoasă 2% chitosan și 2% acid lactic. Dispersia vâscoasă obținută se supune imediat procesului de liofilizare (presiune, 0,045 mbar; temperatura, -50°C ; timp 24 h).

Produsul obținut sub formă de pulbere fină, albă se stochează la temperatura camerei, ferit de contactul cu aerul atmosferic. Testat după 12 luni, a demonstrat faptul că CDLA-LID își păstrează integritatea structurală în urma condiționării în chitosan, în stare uscată. Metoda de condiționare menționată permite obținerea rapidă a unui gel prin simpla mixare cu o cantitate prestabilită de apă.

RO 132702 B1

1 Aceste sisteme au fost testate, *in vitro* pentru determinarea eficienței de eliberare a
lidocainei prin membrană de dializă utilizând un dispozitiv de tip Franz Cell. Cinetica de
3 eliberare rapidă de până la 20 min și menținerea efectului analgezic mai mult de 100 min
sunt prezentate în fig. 8 comparativ cu produsul comercial EMLA (cremă sub formă de
5 emulsie ulei (amestec eutectic de lidocaină bază și prilocaină în proporții egale) în apă în
raport de 1:1).

7 Exemplul 3

8 *Sisteme complexe de tip CDLA-LID integrate în geluri PCP (poloxamer-chitosan-*
9 *polixilosan)*

10 O primă etapă este reprezentată de prepararea gelurilor poloxamer-chitosan (Pol/Chi)
11 și poloxamer-chitosan-polisiloxan (Pol/Chi/PSi) pentru a beneficia de modificarea morfologiei
și fluidității gelului cu temperatura, indusă de prezența poloxamerului și de creșterea capa-
13 cității de transport transdermic a principiului activ din gel, proprietate furnizată de polisiloxan.
Cele două tipuri de geluri au fost obținute folosind diferite rapoarte masice între com-
15 ponentele poloxamer, chitosan și polixilosan (tabelul 2). Inițial au fost obținute două soluții:
o soluție apoasă 25% de poloxamer (Pol) (Pluronic F127) și o soluție 2% chitosan (Chi),
17 (vâscozitate Brookfield, 200000 cPs, grad de deacetilare 76%) în amestec apos: 2% acid
lactic, pH 4. Cele două soluții se răcesc la temperatura de 5°C, se amestecă pe baie de
19 gheață prin agitare magnetică (300 rot/min) timp de o oră și sunt apoi liofilizate. Pentru
obținerea gelurilor poloxamer-chitosan-polisiloxan, în faza de amestecare se adaugă și
21 polisiloxanul (PSi cu masa moleculară Mn = 1260 g/mol) în cantitate de 1% față de chitosan.

23 Compoziția și aspectul gelurilor POL/CHI și POL/CHI/PSi

Tabelul 2

Cod probă	Raport masic Pol/Chi (substanță uscată)	Aspect	
		La t > 6°C	La t < 6°C
Pol/Chia	60/1	Fluid	gel
Pol/Chib	30/1	Fluid	Fluid vâscos
Pol /Chic	20/1	Fluid	Fluid vâscos
Pol /Chid	15/1	Fluid	Fluid vâscos
Pol /Chie	10/1	Fluid	Fluid vâscos
Pol /Chi/PSia	60/1	Fluid	Gel
Pol /Chi/PSib	30/1	Fluid	Gel
Pol /Chi/PSic	20/1	Fluid	Gel
Pol /Chi/PSid	15/1	Fluid vâscos	Fluid vâscos
Pol /Chi/PSie	10/1	Fluid vâscos	Fluid vâscos

39 După studiul de optimizare a formulării gelurilor de tip PCP, a urmat etapa de
preparare gelurilor PCP încărcate cu diverse formulări ale lidocainei (compusul CDLA-LID).
41 Studiile de obținere a acestor tipuri de geluri a fost bazat pe cantitatea maximă de CDLA-LID
ce poate fi solubilizată în soluțiile de Pol/Chi și Pol/Chi/PSi (tabelul 3). Se observa o creștere
43 a cantității de complex CDLA-LID ce poate fi solubilizată în gel odată cu scăderea conținutului
în poloxamer.

Așa cum se observă din datele tabelului 2, probele Pol/Chi își păstrează capacitatea de gelificare la temperaturi scăzute doar pentru rapoarte poloxamer/chitosan de 60/1. Descreșterea acestui raport în favoarea chitosanului determină pierderea acestei proprietăți. Tehnica SEM evidențiază faptul că gelurile Pol/Chi sunt poroase (fig. 9), iar dimensiunea porilor variază în funcție de raportul Pol/Chi.

Adăugarea de cantități foarte mici de polisiloxan hidrofob conduce la lărgirea domeniului de concentrații în care sensibilitatea la temperatura a gelului este păstrată (până la rapoarte poloxamer/chitosan de 20/1). Introducerea de polisiloxan accentuează segregarea în microfaze a amestecului și modifică suplimentar porozitatea gelurilor (fig. 10). Este evidentă micșorarea porilor aproximativ hexagonali caracteristici chitosanului, în special la gelurile cu conținut mai mic de chitosan.

Compoziția gelurilor POL/CHI și POL/CHI/PSi încărcate cu CDLA-LID

Tabelul 3

Cod proba	Cantitate maximă de CDLA-LID (g/g, gel)
Pol/Chi _a	0,238
Pol/Chi _b	0,197
Pol/Chi _c	0,183
Pol/Chi _a	0,467
Pol/Chi _e	0,470
Pol/Chi/PSi _a	0,567
Pol/Chi/PSi _b	0,688
Pol/Chi?PSi _c	0,751

Exemplul 4

Sisteme complexe de tip lipozomi MLV încărcăți cu CDLA-LID integrați într-un gel de chitosan (Chi/MLV-CDLA-LID)

Într-o procedură experimentală tipică, etapa de preparare a complexului multiplu implică amestecarea lipozomilor MLV încărcăți cu CDLA-LID (9,7 mg) cu 1 mL soluție 2% de Chi dizolvat în acid lactic (2%). Aceste sisteme au fost testate, *in vitro* pentru determinarea eficienței de eliberare a lidocainei, prin membrană de dializă utilizând un dispozitiv de tip Franz Cell. Cinetica de eliberare rapidă de până la 20 min și menținerea efectului analgezic mai mult de 100 min sunt prezentate în fig. 8 comparativ cu produsul comercial EMLA (cremă sub formă de emulsie ulei (amestec eutectic de lidocaină bază și prilocaină în proporții egale) în apă în raport de 1:1) care nu prezintă efect "burst" și are o eficiență mai mică de eliberare la 100 min.

Analizând eficiența de eliberare a celor trei formulări testate *in vitro* observăm superioritatea în condițiile date ale formulărilor LID pe bază de complecși și/sau lipozomi față de produsul comercial EMLA.

Demonstrarea utilizării derivaților de CDLA-LID în terapia transdermală a durerii

Teste farmacodinamice pe animale

Efectele derivaților de CDLA-LID (CDLA-LID 2,5%, CDLA-LID-lipozomi, Chi/ CDLA-LID și Chi/MLV-CDLA-LID) comparativ cu gelul de lidocaină de 2,5% și crema EMLA (componenți: lidocaină 2,5% și prilocaină 2,5%) au fost studiate la diferite intervale de timp

RO 132702 B1

1 utilizând șobolani Wistar, adulți, cu o greutate asemănătoare, ținuți în aceleași condiții de
lumină și umiditate, hrană și apă. Toate experimentele au efectuate în acord cu normele de
3 etică în vigoare, conform recomandărilor Comisiei Europene privind realizarea studiilor
preclinice cu produse medicamentoase, normelor și protocoalele analitice, farmacotoxicologic
5 și clinice referitoare la testarea medicamentelor (Ordin 906/25.07.2006), Comisiei de
Etică a Asociației Internaționale pentru Studiul Durerii (IASP), și pe baza avizului din partea
7 Comisiei de Etică a Universității de Medică și Farmacie Gr. T. Popa, Iași.

8 Studiiile *in vivo* au fost efectuate pe pielea șobolanilor fără păr, îndepărtat prin
9 combinația de ras și aplicare de cremă epilatoare. Inițial s-a dezvoltat modelul de hiper-
algezie inflamatorie cu carrageenan conform literaturii de specialitate [H. Wheeler-Aceto,
11 A.Cowan, Psychopharmacology, 1991, 104(1), 35-44], urmată de etapa de administrare a
gelurilor/cremei la nivelul pielii depilate din regiunea toracică posterioară timp 1 min în fiecare
13 oră timp de 4 h. Efectul anestezic al compușilor testați compartiv cu crema comercială EMLA
a fost determinat prin stimulare nociceptivă cu ajutorul testelor: placă încinsă (Hot Plate),
15 placă rece (Cold Plate) și algezimetric. Șobolanilor le-a fost testat răspunsul la aceste teste
la momentul bazal, la 30 min după aplicarea cremei/gelului la nivelul labei posterioare drepte,
17 la 1 h și din oră în oră până la 4 h. Concluziile testelor *in vivo* efectuate demonstrează efectul
analgezic al compușilor derivați de CDLA-LID, cu precădere compusul Chi/CDLA-LID și
19 Chi/MLV-CDLA-LID comparativ cu EMLA. La testarea algezimetrică, complexul Chi/CDLA-
LID intră în acțiune lent până la 15 min de la administrare și are efect maxim în intervalul 15-
21 30 min, apoi efectul se diminuează dar nu dispare nici măcar la 2 h (fig. 11), efect net
superior raportat la efectul cremei EMLA. Rezultatele obținute la analgezimetru au fost
23 verificate și prin testul Cold Plate, unde efectul Chi/CDLA-LID este semnificativ mai mare
decât al cremei EMLA la 30 min de la administrare, apoi efectul este diminuat, iar la o oră
25 este similar cu al cremei EMLA și apoi regresează (fig. 12). Testarea la Hot Plate la 5 min
după administrare evidențiază un efect semnificativ mai mare al gelului Chi/CDLA-LID decât
27 al cremei EMLA (fig. 12), efect ce se păstrează semnificativ la testarea de la 15 min, 30 de
min și la fel ca la testul precedent a avut efect similar cremei EMLA la o oră de la
29 administrare, efectul scăzând spre 2 h. Din punct de vedere anatomopatologic, modificările
constatate în fragmentele recoltate (șobolanii au fost eutanasiați conform eticii în vigoare)
31 de la lotul căruia s-a administrat Chi/CDLA-LID sunt similare lotului testat cu EMLA.
Comportări similare cu gelul Chi/CDLA-LID au fost constatare și pentru formulările lipozomale
33 Chi/MLV-CDLA-LID, superioare produsului comercial EMLA (fig. 12).

RO 132702 B1

Revendicări

1. Procedeu de obținere a unei formulări farmaceutice cu proprietăți analgezice cuprinzând sisteme complexe pe bază de lidocaină, derivați de ciclodextrină și lipozomi, **caracterizat prin aceea că:**
- se formează lipozomii unilamelari/multilamelari pe bază de fosfolipide singulare sau în combinații de tipul glicerofosfolipidelor, alese dintre fosfatidilcolină, fosfatidiletanolamină, fosfatidilserină, fosfatidilinozitol, cardiopline și sfingofosfolipide și/sau colesterol și/sau derivați ai acestora, urmată de hidratarea acestor lipozomi cu o soluție de lidocaină încorporată în derivatul de ciclodextrină obținut prin:
 - modificarea α -, sau β -, sau γ -ciclodextrinei, de preferință β -ciclodextrina cu secvențe de oligoesteri prin reacția de deschidere a ciclului lactidei, cu formarea unui produs ce conține un număr de unități de lacticidă cuprins între 1..21, de preferință 1...4 unități de lacticidă înșiruite;
 - incluziunea lidocainei printr-un procedeu de malaxare în sistem deschis cu stoichiometria de complexare cuprinsă în domeniul 0,5...1,5 cu o valoare optimă de 1:1;
 - are drept rezultat obținerea unui sistem complex care determină creșterea solubilității lidocainei în medii apiase, creșterea biodisponibilității și o toxicitate la o valoare situată sub pragul legal stabilit în cazul utilizării ca sistem de eliberare transdermală a medicamentelor de uz extern.
2. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, etapa de includere a soluției de lidocaină încorporată în derivatul de ciclodextrină în lipozomi este opțională.
3. Procedeu conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că**, pentru îmbunătățirea stabilității în timp și creșterea adhezivității pe tegument, sistemul complex pe bază de lidocaină, derivați de ciclodextrină și lipozomi sau sistemul bazat pe lidocaină și derivați de ciclodextrină sunt condiționate cu sisteme polimerice alese dintre poloxamer-chitosan sau poloxamer-chitosan-polisiloxan.
4. Procedeu conform revendicării 3, **caracterizat prin aceea că**, în cazul sistemului polimeric poloxamer-chitosan, chitosanul are masa moleculară cuprinsă între 50000...400000 Da, vâscozitatea cuprinsă între 20...2000 cP sau <100 mPa.s, grad de deacetilare cuprins între 75...85% sau derivați ai chitosanului care au în mod preferat, o vâscozitate de 200 cP și grad de acetilare de 76% iar poloxamerul are număr variabil de unități de polipropilen-glicol și polietilen-glicol, masă moleculară cuprinsă între 1,9-15 kDa, optim Pluronic F127, iar raportul de masă de amestecare este între 80:1 și 5:1.
5. Procedeu conform revendicării 3, **caracterizat prin aceea că**, în cazul sistemului polimeric poloxamer-chitosan sau derivați de chitosan-polisiloxan, polisiloxanul este funcționalizat cu grupări amino propilice terminale și are masa moleculară cuprinsă între 1000...2500 Da, optim 1 260, iar proporția de amestecare față de chitosan este de la 0,5 la 1,5%, chitosanul are masa moleculară cuprinsă între 50-400 kDa, vâscozitatea cuprinsă între 20-2000 cP sau <100 mPa.s, grad de deacetilare cuprins între 75-85%, iar derivații chitosanului au preferabil vâscozitatea de 200 cP și gradul de deacetilare de 76%, raportul masic de amestecare poloxamer-chitosan sau derivați de chitosan este cuprins între 80:1 și 50:1.
6. Formulă farmaceutică cu proprietăți analgezice obținută prin procedeul definit în revendicările 1-5.

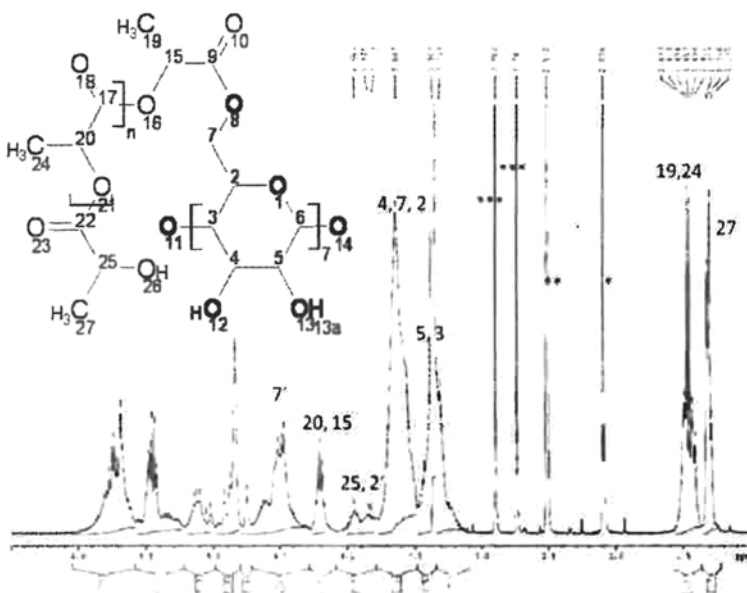


Fig. 1

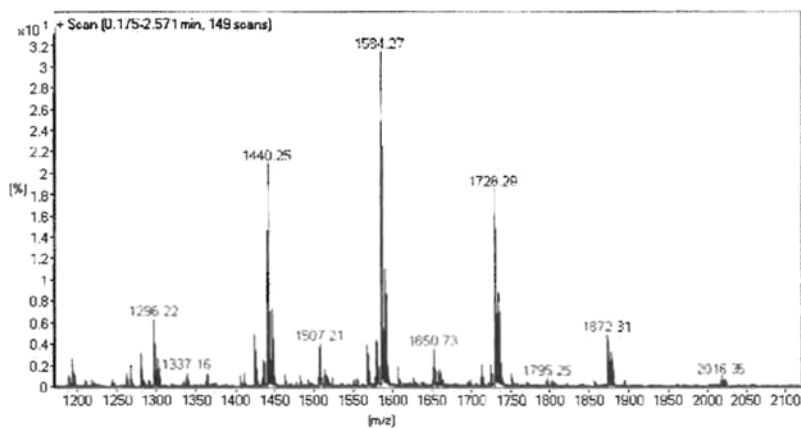


Fig. 2

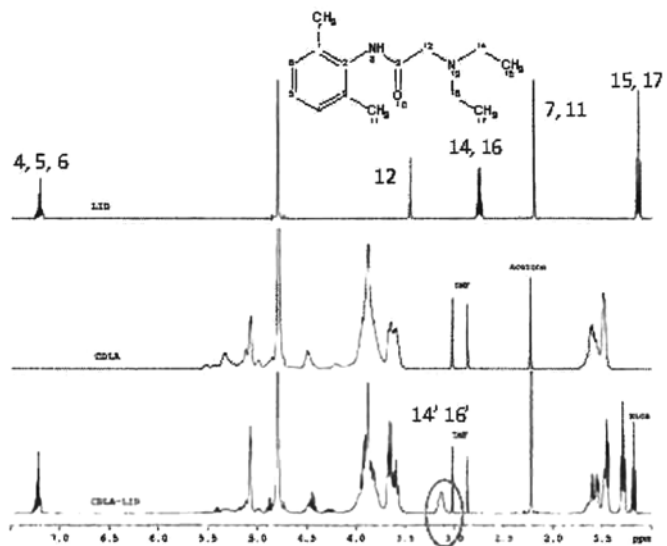


Fig. 3

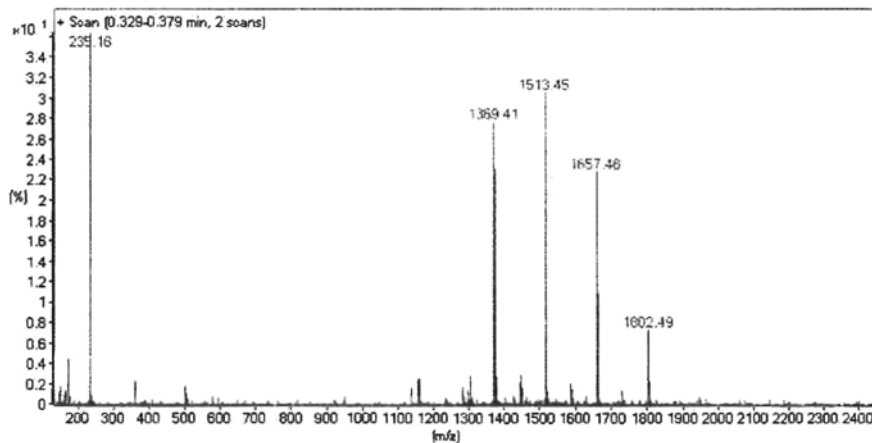


Fig. 4a

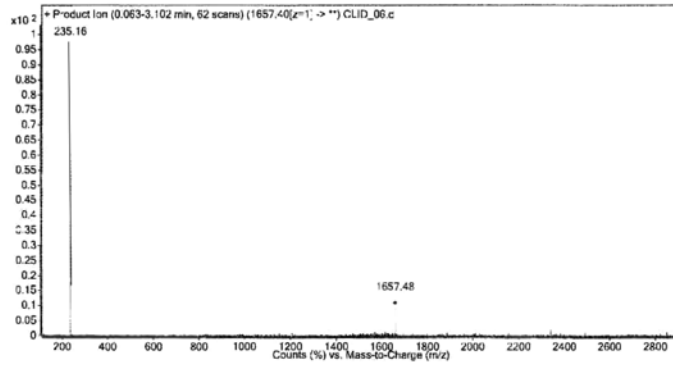


Fig. 4b

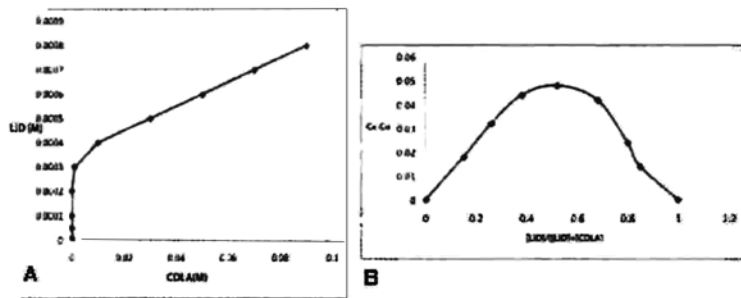


Fig. 5

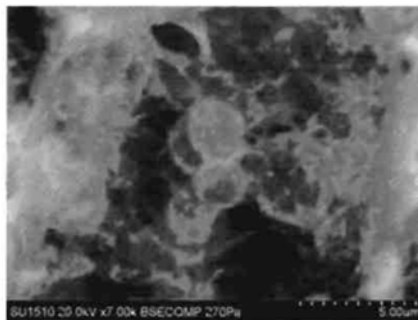


Fig. 6

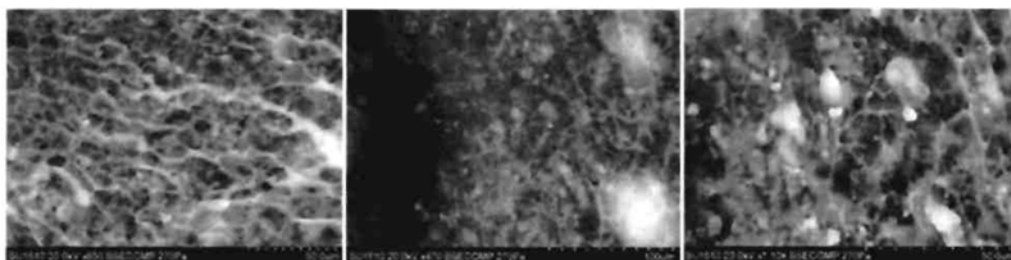


Fig. 7

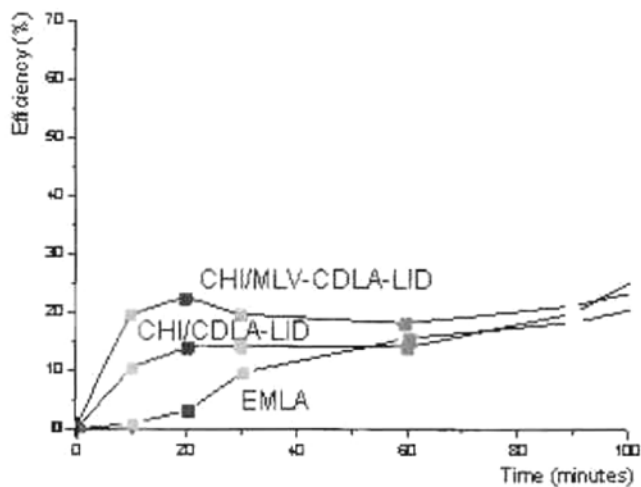


Fig. 8

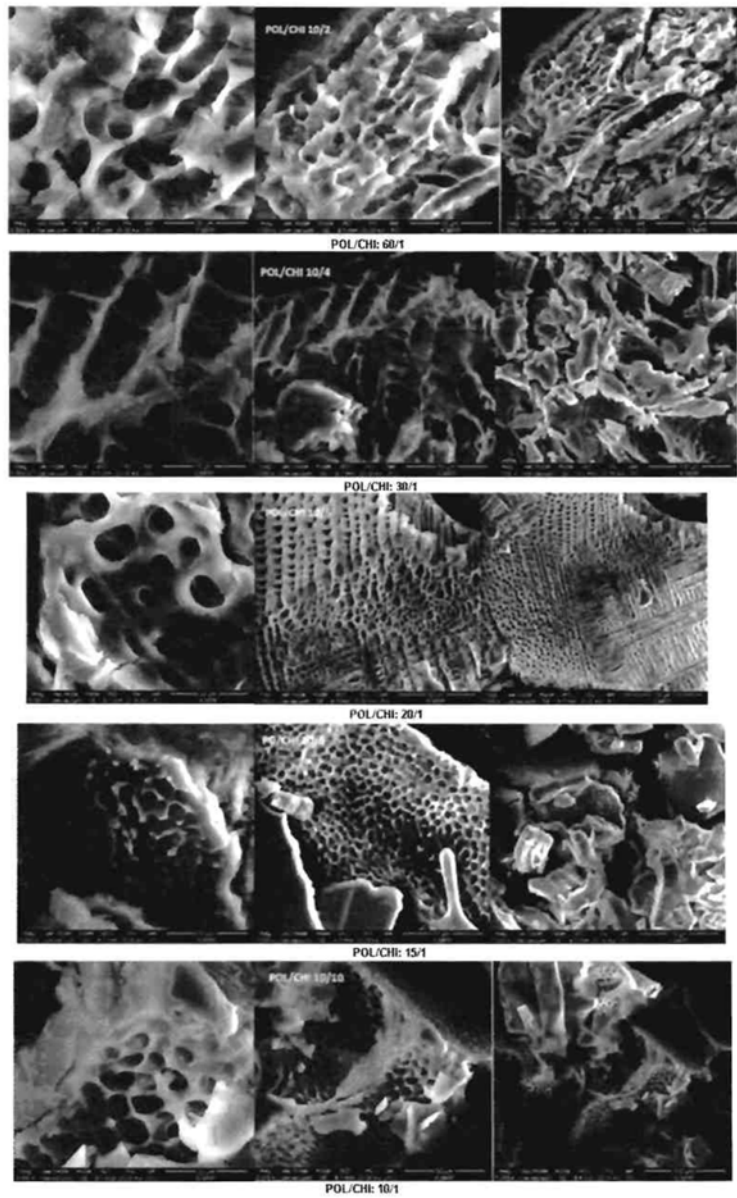


Fig. 9

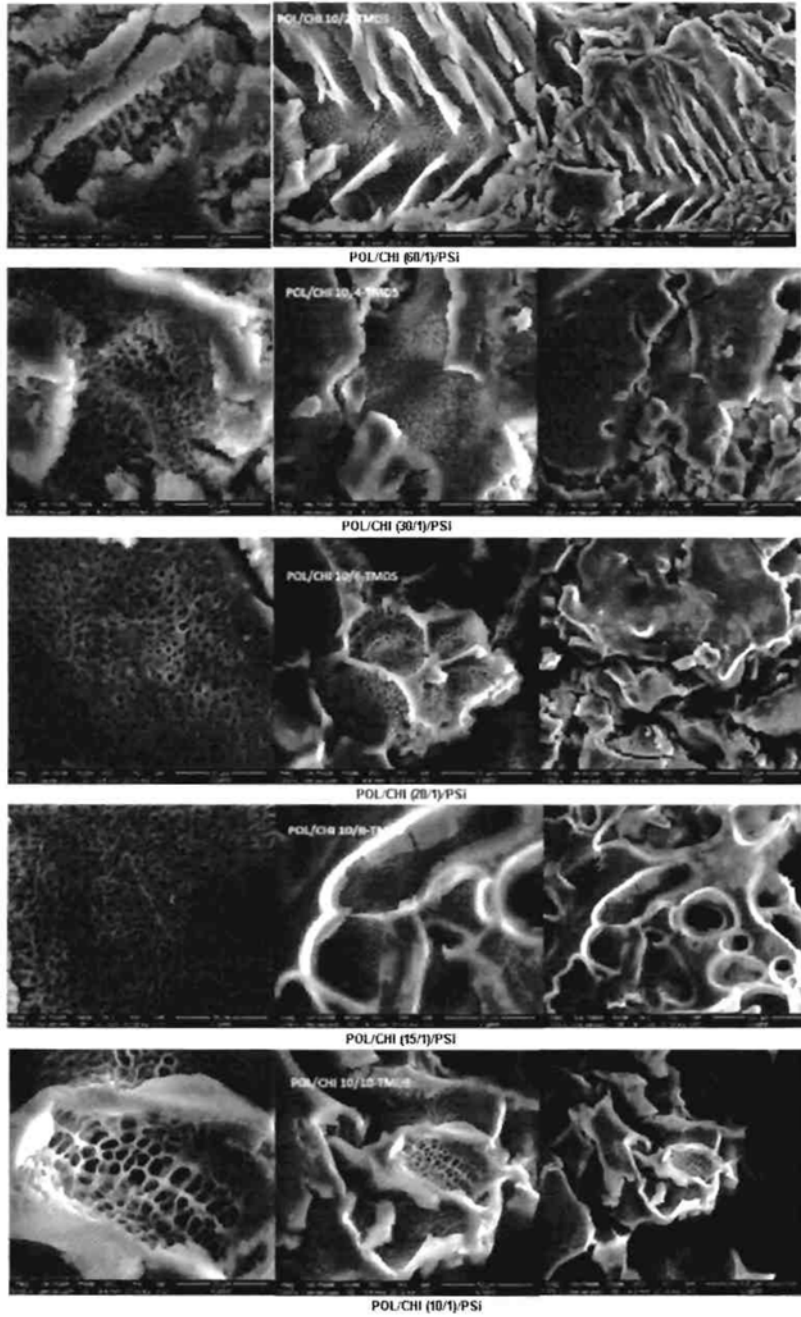


Fig. 10

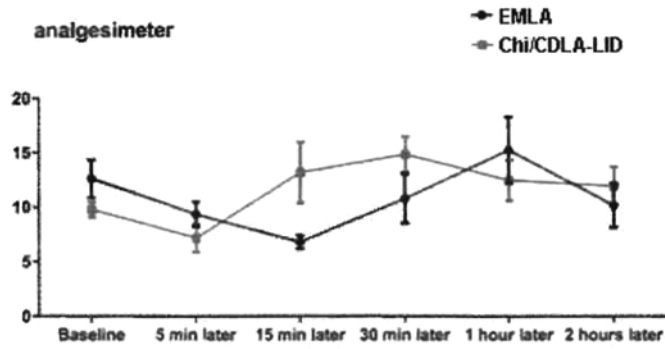


Fig. 11

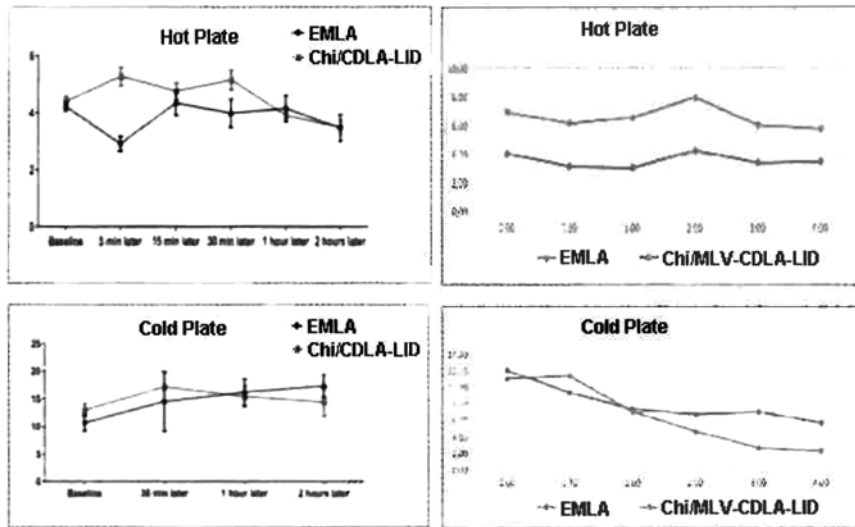


Fig. 12

