

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2003.02.04	(73) Titular(es): ELAN PHARMA INTERNATIONAL LTD.	
(30) Prioridade(s): 2002.02.04 US 353230 P	WIL HOUSE, SHANNON BUSINESS PARK,	
(43) Data de publicação do pedido: 2004.11.03	SHANNON COUNTY CLARE	IE
(45) Data e BPI da concessão: 2010.04.21	(72) Inventor(es):	
136/2010	NIELS P. RYDE	US
	CHRISTIAN F. WERTZ	US
	(74) Mandatário:	
	ELSA MARIA MARTINS BARREIROS AMARAL CANHÃO	
	RUA DO PATROCÍNIO 94 1399-019 LISBOA	PT

(54) Epígrafe: **COMPOSIÇÕES DE NANOPARTÍCULAS COM LISOZIMA COMO UM ESTABILIZADOR SUPERFICIAL**

(57) Resumo:

DESCRIÇÃO

"COMPOSIÇÕES DE NANOPARTÍCULAS COM LISOZIMA COMO UM ESTABILIZADOR SUPERFICIAL"

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a formulações de nanopartículas de um agente activo possuindo lisozima adsorvida ou associada à superfície do agente, como um estabilizador de superfície e a métodos de preparação e utilização de tais composições.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A. Antecedentes Relativamente a Composições de Nanopartículas

As composições de nanopartículas, descritas pela primeira vez na Patente U.S. nº 5145684 ("a patente '684"), são partículas consistindo de um agente terapêutico ou de diagnóstico pouco solúvel, tendo adsorvido, ou associado, na sua superfície, um estabilizador de superfície, não reticulado. A patente '684 descreve a utilização de uma variedade de estabilizadores de superfície para composições de nanopartículas. A utilização de uma lisozima como um estabilizador de superfície para composições de nanopartículas ou qualquer outro componente de tais composições, não é descrita pela patente '684.

A patente '684 descreve um método de rastreio de agentes activos para identificar estabilizadores de superfície úteis que permitem a produção de uma composição de nanopartículas. Nem todos os estabilizadores de superfície funcionarão para produzir uma composição de nanopartículas não aglomerada, estável para todos os agentes activos. Além disso, os estabilizadores de superfície conhecidos podem ser inadequados para produzir uma composição de nanopartículas não aglomerada, estável para determinados agentes activos. Assim, existe uma necessidade na técnica para identificar novos estabilizadores de superfície úteis na preparação de composições de nanopartículas. Além disso, esses novos estabilizadores de superfície podem ter propriedades superiores em relação aos estabilizadores de superfície anteriores conhecidos.

Métodos de preparação de composições de nanopartículas são descritos, por exemplo, nas Patentes U.S. nº 5518187 e 5862999, ambas sobre "Método de Trituração de Substâncias Farmacêuticas;" Patente U.S. nº 5718388, sobre "Método Contínuo de Trituração de Substâncias Farmacêuticas;" e Patente U.S. nº 5510118 sobre "Processo de Preparação de Composições Terapêuticas Contendo Nanopartículas."

Composições de nanopartículas também são descritas, por exemplo, nas Patentes U.S. nº 5298262 sobre "Utilização de Modificadores Iónicos de Ponto de Turvação para Prevenir a Agregação de Partículas Durante a Esterilização;" 5302401 sobre "Método de Redução de Crescimento do Tamanho de Partícula Durante a Liofilização;" 5318767 sobre "Composições de Contraste para Raios X Úteis em Imagiologia Médica;" 5326552 sobre "Nova Formulação de Agentes de Contraste em Nanopartículas para

Análise de Distribuição Sanguínea por Raios X Utilizando Tensioactivos Não Iónicos de Elevada Massa Molecular;" 5328404 sobre "Método de Imagiologia por Raios X Utilizando Propanodioatos Aromáticos Iodados;" 5336507 sobre "Utilização de Fosfolípidos Carregados para Reduzir a Agregação de Nanopartículas;" 5340564 sobre "Formulações Compreendendo Olinea 10-G para Prevenir a Agregação de Partículas e Aumentar a Estabilidade;" 5346702 sobre "Utilização de Modificadores Não Iónicos do Ponto de Turvação para Minimizar a Agregação de Nanopartículas Durante Esterilização;" 5349957 sobre "Preparação e Propriedades Magnéticas de Partículas Magnéticas Muito Pequenas de Dextrano;" 5352459 sobre "Utilização de Modificadores de Superfície Purificados para Prevenir a Agregação de Partículas Durante a Esterilização;" 5399363 e 5494683, ambas sobre "Nanopartículas Anticancerígenas de Superfície Modificada;" 5401492 sobre "Partículas Não Magnéticas de Manganês Insolúveis em Água como Agentes de Melhoramento de Ressonância Magnética;" 5429824 sobre "Utilização de Tiloxapol como um Estabilizador de Nanopartículas;" 5447710 sobre "Método de Preparação de Agentes de Contraste em Nanopartículas para Análise de Distribuição Sanguínea por Raios X Utilizando Tensioactivos não Iónicos de Massa Molecular Elevada;" 5451393 sobre "Composições de Contraste para Raios X Úteis em Imagiologia Médica;" 5 466 440 sobre "Formulações de Agentes de Contraste Orais para Diagnóstico Gastrointestinal por Raios X em Combinação com Argilas Farmaceuticamente Aceitáveis;" 5470583 sobre "Método de Preparação de Composições de Nanopartículas Contendo Fosfolípidos Carregados para Reduzir Agregação;" 5472683 sobre "Anidridos Carbâmicos Mistos de Diagnóstico em Nanopartículas como Agentes de Contraste de Raio X para Imagiologia de Distribuição Sanguínea e do Sistema Linfático;" 5500204 sobre "Dímeros de Diagnóstico em Nanopartículas como

Agentes de Contraste de Raios X para Imagiologia de Distribuição Sanguínea e do Sistema Linfático;" 5518738 sobre "Formulações de NSAID em Nanopartículas;" 5521218 sobre "Derivados de Iododipamida em Nanopartículas para Utilização como Agentes de Contraste de Raios X;" 5525328 sobre "Agentes de Contraste de Diagnóstico por Raios X à base de Éster de Diatrizoxilo em Nanopartículas para Imagiologia de Distribuição Sanguínea e do Sistema Linfático;" 5543133 sobre "Processo de Preparação de Composições de Contraste de Raios X Contendo Nanopartículas;" 5552160 sobre "Nanopartículas de NSAID de Superfície Modificada;" 5560931 sobre "Formulações de Compostos como Dispersões de Nanopartículas em Óleos ou Ácidos Gordos Digestíveis;" 5565188 sobre "Copolímeros de Bloco de Polialquileno como Modificadores de Superfície para Nanopartículas;" 5569448 sobre "Tensioactivo de Copolímero de Bloco Não Iónico Sulfatado como Revestimentos de Estabilização para Composições de Nanopartículas;" 5 571 536 sobre "Formulações de Compostos como Dispersões de Nanopartículas em Óleos ou Ácidos Gordos Digestíveis;" 5 573 749 sobre "Anidridos Carboxílicos Mistos de Diagnóstico em Nanopartículas como Agentes de Contraste de Raios X para Imagiologia de Distribuição Sanguínea e do Sistema Linfático;" 5573750 sobre "Agentes de Contraste para Diagnóstico por Imagiologia de Raios X;" 5 573 783 sobre "Matrizes de Película de Nanopartículas Redispersáveis Com Revestimentos Protectores;" 5580579 sobre "Adesão Específica ao Local no Tracto GI Utilizando Nanopartículas Estabilizadas com Polímeros de Poli(óxido de etileno) Linear, de Massa Molecular Elevada;" 5585108 sobre "Formulações de Agentes Terapêuticos Gastrointestinais Orais em Combinação com Argilas Farmaceuticamente Aceitáveis;" 5587143 sobre "Tensioactivos de Copolímeros de Bloco de Óxido de Butileno-Óxido de Etileno como Revestimentos Estabilizantes para

Composições de Nanopartículas;" 5591456 sobre "Naproxeno Moído com Hidroxipropilcelulose como Estabilizantes de Dispersão;" 5593657 sobre "Novas Formulações de Sal de Bário Estabilizadas com Estabilizantes Não Iônicos e Aniônicos;" 5622938 sobre "Tensioactivo à Base de Açúcar para Nanocristais;" 5628981 sobre "Formulações Melhoradas de Agentes de Contraste Orais para Diagnóstico Gastrointestinal por Raios X e de Agentes Terapêuticos Gastrointestinais Orais;" 5643552 sobre "Anidridos Carbônicos Mistos de Diagnóstico em Nanopartículas como Agentes de Contraste de Raios X para Imagiologia de Distribuição Sanguínea e do Sistema Linfático;" 5718388 sobre "Método Contínuo de Trituração de Substâncias Farmacêuticas;" 5718919 sobre "Nanopartículas Contendo o Enantiómero R(-) de Ibuprofeno;" 5747001 sobre "Aerossóis Contendo Dispersões de Nanopartículas de Beclometasona;" 5834025 sobre "Redução de Reacções Fisiológicas Adversas Induzidas por Formulação de Nanopartículas Administrada por Via Intravenosa;" 6045829 "Formulações Nanocristalinas de Inibidores da Protease do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) Utilizando Estabilizadores de Superfície Celulósicos;" 6068858 sobre "Métodos de Preparação de Formulações Nanocristalinas de Inibidores da Protease do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) Utilizando Estabilizadores de Superfície Celulósicos;" 6153225 sobre "Formulações Injectáveis de Naproxeno em Nanopartículas;" 6165506 sobre "Nova Forma de Dosagem Sólida de Naproxeno em Nanopartículas;" 6221400 sobre "Métodos de Tratamento de Mamíferos Utilizando Formulações Nanocristalinas de Inibidores da Protease do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV);" 6264922 sobre "Aerossóis Nebulizados Contendo Dispersões de Nanopartículas;" 667989 sobre "Métodos de Prevenção de Crescimento de Cristais e Agregação de Partículas em Composições de Nanopartículas;" 6270806 sobre "Utilização de Lípidos Derivatizados com PEG como

Estabilizadores de Superfície para Composições de Nanopartículas;" 6316029 sobre "Forma de Dosagem Oral Sólida de Desintegração Rápida," 6375986 sobre "Composições de Dose Sólida em Nanopartículas Compreendendo uma Combinação Sinérgica de um Estabilizador de Superfície Polimérico e Dioctilsulfossuccinato de Sódio;" 6428814 sobre "Composições bioadesivas de nanopartículas possuindo estabilizadores de superfície catiónicos;" 6431478 sobre "Moinho de Pequena Escala;" e 6432381 sobre "Métodos para direccionar a administração de fármacos ao tracto gastrointestinal superior e/ou inferior". Além disso, o Pedido de Patente U.S. nº 20020012675 A1, publicado em 31 de Janeiro de 2002, sobre "Composições de Nanopartículas de Libertação Controlada," descreve composições de nanopartículas.

Composições de partículas pequenas amorfas são descritas, por exemplo, nas Patentes U.S. nº 4783484 sobre "Composição de Partículas e Sua Utilização como Agente Antimicrobiano;" 4826689 sobre "Método de Preparação de Partículas de Tamanho Uniforme de Compostos Orgânicos Insolúveis em Água;" 4997454 sobre "Método de Preparação de Partículas de Tamanho Uniforme de Compostos Insolúveis;" 5741522 sobre "Partículas Porosas, Ultra-pequenas, Não Agregadas de Tamanho Uniforme para Reter Bolhas de Gás no Seu Interior e Métodos;" e 5776496, sobre "Partículas Porosas Ultra-pequenas para Melhoramento da Retrodifusão de Ultra-sons."

B. Antecedentes Relativamente à Utilização de Lisozima em Composições Farmacêuticas

A lisozima, também conhecida como muramidase, N-acetilmuramil-hidrolase e globulina G1, tem um peso molecular de cerca de 14400. É uma enzima mucolítica com propriedades

antibióticas, descoberta pela primeira vez por A. Fleming, Proc. Roy. Soc. London, 93B:306 (1922). A lisozima está presente em lágrimas, muco nasal, leite, saliva, soro sanguíneo, um grande número de tecidos e secreções de animais diferentes, vertebrados e invertebrados, clara de ovo, alguns bolores e no látex de várias plantas.

A estrutura da lisozima consiste de um único polipéptido ligado por quatro pontes dissulfureto. Ela provoca a lise de polissacáridos da parede celular bacteriana através da hidrólise das ligações 1,4- β entre o ácido N-acetilmurâmico e resíduos de N-acetil-D-glucosamina.

Embora a lisozima possua propriedades antibióticas, ela é uma molécula grande que não é particularmente útil como um fármaco. Pode ser aplicada por via tópica, mas não pode libertar da doença todo o corpo porque é demasiado grande para se deslocar entre células.

Várias patentes U.S. descrevem a utilização de lisozima como um ingrediente activo em composições farmacêuticas. Ver e. g., Patente U.S. nº 6096307 sobre "Composições para Imunoestimulação Contendo Echinacea Angustifolia, Bromelaína e Lisozima," Patente U.S. nº 6239088 sobre "Composição Desmaquilhante Não Irritante," Patente U.S. nº 5458876 sobre "Controlo do Crescimento Microbiano com Formulações de Antibiótico/lisozima," e Patente U.S. nº 5041236 sobre "Métodos e Composições Antimicrobianos Utilizando Determinadas Lisozimas e Endoglicosidasas."

O documento JP 57-26615 A divulga a co-moagem de fármaco com uma proteína solúvel, tais como gelatina ou lisozima, para

aumentar a biodisponibilidade e a velocidade de dissolução do fármaco (ver, também, K. Kigasawa *et al.* em Yakusaku Zasshi (1981) vol. 101, páginas 723-732 e 733-739).

Existe uma necessidade na técnica para novos estabilizadores de superfície úteis na preparação de composições de nanopartículas de agentes activos. A presente invenção satisfaz esta necessidade.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a composições de nanopartículas compreendendo um agente activo pouco solúvel e lisozima como um estabilizador de superfície, adsorvido ou associado na superfície do agente activo. O agente activo é um agente terapêutico ou de diagnóstico.

Outro aspecto da invenção refere-se a composições farmacêuticas compreendendo uma composição de nanopartículas da invenção. As composições farmacêuticas compreendem, de um modo preferido, um agente activo pouco solúvel, lisozima e um veículo farmacêuticamente aceitável, bem como quaisquer excipientes desejados.

Ainda noutra forma de realização, a invenção refere-se a composições bioadesivas de nanopartículas compreendendo lisozima. Tais composições podem revestir o intestino ou o sítio de aplicação desejado e ser retido durante um período de tempo, aumentando, desse modo, a eficácia do agente activo, assim como eliminando ou diminuindo a frequência de dosagem.

Esta invenção divulga ainda um método de preparação de uma composição de nanopartículas possuindo um estabilizador de superfície de lisozima adsorvido ou associado à superfície do agente activo. Um tal método compreende pôr em contacto um agente activo pouco solúvel na forma de nanopartículas com lisozima, durante um período de tempo e em condições suficientes para proporcionar uma composição de nanopartículas/lisozima. O estabilizador de superfície de lisozima pode ser posto em contacto com o agente activo antes, durante ou após redução de tamanho do agente activo.

A presente invenção refere-se ainda a um método de tratamento compreendendo a administração a um mamífero de uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma composição de agente activo/lisozima, na forma de nanopartículas, de acordo com a invenção.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a composições compreendendo agentes activos, na forma de nanopartículas, possuindo lisozima como um estabilizador de superfície adsorvido ou associado à sua superfície, e métodos de preparação e utilização de tais composições de nanopartículas.

Como ensinado na patente '684, nem todas as combinações de estabilizador de superfície e agente activo resultarão numa composição de nanopartículas estável. A revelação da presente invenção é ainda mais surpreendente já que se constatou que outros estabilizadores de superfície proteicos eram ineficazes em tentativas realizadas para preparar composições de

nanopartículas de várias classes e estruturas de fármacos. Tais estabilizadores proteicos ineficazes incluem o fibrinogénio, γ -globulina, albumina e caseína.

Além do mais, um benefício inesperado das composições de nanopartículas da invenção é que é provável que as composições apresentem propriedades bioadesivas. Isto é devido ao facto de a lisozima ter um ponto isoeléctrico elevado ($pI = 11,35$), o qual provavelmente resultará em composições de nanopartículas estáveis exibindo potenciais zeta positivos, relativamente grandes. Para aumentar as propriedades bioadesivas de uma composição de nanopartículas, pode utilizar-se um ou mais estabilizadores de superfície catiónicos.

As formulações bioadesivas de agentes activos na forma de nanopartículas compreendendo lisozima exibem uma bioadesão excepcional às superfícies biológicas, tais como mucosa, pele, etc. O termo bioadesão refere-se a qualquer interacção atractiva entre duas superfícies biológicas ou entre uma superfície biológica e uma sintética. No caso de composições bioadesivas de nanopartículas, o termo bioadesão é utilizado para descrever a adesão entre as composições de nanopartículas e um substrato biológico (*i. e.* mucina gastrointestinal, tecido pulmonar, mucosa nasal, etc.). Ver *e. g.*, Patente U.S. nº 6428814 sobre "Composições Bioadesivas de Nanopartículas Possuindo Estabilizadores de Superfície Catiónicos", a qual é especificamente incorporada por referência. Existem, basicamente, dois mecanismos que podem ser responsáveis por este fenómeno de bioadesão: interacções mecânicas ou físicas e interacções químicas. O primeiro destes, mecanismos mecânicos ou físicos, envolve o entrelaçamento ou interpenetração físico entre uma entidade bioadesiva e o tecido do receptor, resultante

de um bom humedecimento da superfície bioadesiva, dilatação do polímero bioadesivo, penetração da entidade bioadesiva numa abertura da superfície do tecido ou interpenetração de cadeias da composição bioadesiva com as da mucosa ou outros tecidos relacionados desse tipo. O segundo mecanismo de bioadesão possível, incorpora forças tais como atracção iónica, forças dipolares, interacções de van der Waals e ligações de hidrogénio. É esta forma de bioadesão que é principalmente responsável pelas propriedades bioadesivas das composições de nanopartículas da invenção. No entanto, as interacções físicas e mecânicas também podem desempenhar um papel secundário na bioadesão dessas composições de nanopartículas.

As composições bioadesivas de agente activo, na forma de nanopartículas da invenção, são úteis em qualquer situação na qual seja desejável aplicar as composições numa superfície biológica. As composições bioadesivas de agente activo, na forma de nanopartículas da invenção, revestem a superfície visada com uma película contínua e uniforme a qual é invisível ao olho humano nu.

Além disso, uma formulação bioadesiva abranda o trânsito da formulação e também é muito provável que algumas partículas de agente activo adiram a outros tecidos que não as células da mucosa e origemem, por isso, uma exposição prolongada ao agente activo.

A adesão apresentada pelas composições da invenção significa que as partículas do agente activo na forma de nanopartículas não são facilmente lixiviadas, arrastadas ou removidas de outro modo da superfície biológica durante um período de tempo prolongado. O período de tempo em que a

superfície da célula biológica é substituída, é o factor que limita a retenção das partículas bioadesivas de agente activo na forma de nanopartículas nessa superfície biológica. Por exemplo, as células cutâneas são substituídas a cada 24-48 horas. Assim, a composição de agente activo na forma de nanopartículas teria de ser reaplicada na pele a cada 48 horas. As células da mucosa libertam-se e são substituídas aproximadamente a cada 5-6 horas.

A presente invenção é aqui descrita utilizando várias definições, como estabelecido abaixo e ao longo do pedido.

Como aqui utilizado, "aproximadamente" será compreendido pelos especialistas na técnica e variará em certa medida no contexto em que é utilizado. Se existirem utilizações do termo que não são evidentes para o especialista na técnica tendo em consideração o contexto no qual é utilizado, "aproximadamente" significará até mais ou menos 10% do termo particular.

Como aqui utilizado com respeito a partículas de fármaco estáveis, 'estável' significa que as partículas de fármaco não formam flocos ou aglomerados de modo apreciável devido a forças atractivas interpartícula ou não aumentam de outro modo o tamanho de partícula.

'Quantidade terapeuticamente eficaz' como aqui utilizada com respeito a uma dosagem de fármaco, deverá significar a dosagem que proporciona a resposta farmacológica específica para a qual o fármaco é administrado num número significativo de indivíduos necessitados desse tratamento. Sublinhe-se que a 'quantidade terapeuticamente eficaz', administrada a um indivíduo particular num caso particular não será sempre eficaz no tratamento das doenças aqui descritas, mesmo que essa dosagem

seja considerada uma 'quantidade terapêuticamente eficaz' pelos especialistas na técnica. Entender-se-á ainda que as dosagens de fármaco são, em casos particulares, medidas como dosagens orais ou relativamente aos níveis de fármaco como medidos no sangue.

A. Composições

As composições da invenção compreendem um agente activo na forma de nanopartículas e lisozima como um estabilizador de superfície adsorvido ou associado à superfície do agente activo. Além disso, as composições podem compreender um ou mais estabilizadores de superfície secundários. Os estabilizadores de superfície úteis aqui aderem fisicamente à superfície do agente activo na forma de nanopartículas mas não reagem quimicamente com o agente activo ou com ele mesmo. Individualmente, as moléculas do estabilizador de superfície estão essencialmente isentas de reticulações intermoleculares.

A presente invenção também inclui composições de nanopartículas possuindo lisozima como um estabilizador adsorvido ou associado à sua superfície, formulado nas composições em conjunto com um ou mais portadores, adjuvantes ou veículos não tóxicos fisiologicamente aceitáveis, colectivamente referidos como portadores. As composições podem ser formuladas para injeção parentérica, administração oral na forma sólida, líquida ou de aerossol, administração rectal ou tópica, e semelhantes.

1. Partículas de Agente Activo

As nanopartículas da invenção compreendem um agente activo, terapêutico ou de diagnóstico, colectivamente referido como um “fármaco.” Um agente terapêutico pode ser um agente farmacêutico, incluindo produtos biológicos, tais como proteínas, péptidos e nucleótidos, ou um agente de diagnóstico, tal como um agente de contraste, incluindo agentes de contraste para raios X. O agente activo existe como uma fase cristalina, discreta ou como uma fase amorfa. A fase cristalina difere de uma fase não cristalina ou amorfa que resulta de técnicas de precipitação, como as descritas na Patente EP nº 275 796. Podem ser utilizados dois ou mais agentes activos em combinação.

A invenção pode ser posta em prática com uma grande variedade de agentes activos. O agente activo está, de um modo preferido, presente numa forma essencialmente pura, é pouco solúvel e é dispersável em, pelo menos, um meio de dispersão líquido. Por “pouco solúvel” pretende-se referir que o agente activo tem uma solubilidade no meio de dispersão líquido inferior a cerca de 10 mg/mL e, de um modo preferido, inferior a cerca de 1 mg/mL. Os meios de dispersão líquidos úteis incluem, mas não se limitam a, água, soluções salinas aquosas, óleo de açafrão-bastardo e solventes, tais como etanol, t-butanol, hexano e glicol.

a. Agentes Activos em Geral

O agente activo pode ser seleccionado de uma variedade de classes de fármacos conhecidas, incluindo, por exemplo, proteínas, péptidos, nucleótidos, fármacos antiobesidade,

nutracêuticos, suplementos deitéticos, carotenóides, corticosteróides, inibidores da elastase, antifúngicos, terapias oncológicas, antieméticos, analgésicos, agentes cardiovasculares, agentes anti-inflamatórios, anti-helmínticos, agentes antiarrítmicos, antibióticos (incluindo penicilinas), anticoagulantes, antidepressivos, agentes antidiabéticos, antiepilépticos, anti-histamínicos, agentes anti-hipertensivos, agentes antimuscarínicos, agentes antimicobacterianos, agentes antineoplásicos, imunossupressores, agentes antitiróide, agentes antivirais, sedativos ansiolíticos (hipnóticos e neurolépticos), adstringentes, agentes bloqueadores do receptor beta-adrenérgico, produtos e substitutos sanguíneos, agentes inotrópicos cardíacos, meios de contraste, corticosteróides, supressores da tosse (expectorantes e mucolíticos), agentes de diagnóstico, agentes de imagiologia de diagnóstico, diuréticos, dopaminérgicos (agentes antiparkinsonianos), hemostáticos, agentes imunológicos, agentes reguladores de lípidos, relaxantes musculares, parassimpatomiméticos, calcitonina e bifosfonatos paratiróides, prostaglandinas, radiofármacos, hormonas sexuais (incluindo esteróides), agentes antialérgicos, estimulantes e anorécticos, simpatomiméticos, agentes da tiróide, vasodilatadores e xantinas.

Nutracêuticos e suplementos dietéticos exemplificativos são divulgados, por exemplo, em Roberts *et al.*, *Nutraceuticals: The Complete Encyclopedia of Supplements, Herbs, Vitamins, and Healing Foods* (American Nutraceutical Association, 2001). Um nutracêutico ou suplemento dietético, também conhecido como fitoquímicos ou alimentos funcionais, é geralmente qualquer um de uma classe de suplementos dietéticos, vitaminas, minerais, ervas ou alimentos terapêuticos que têm efeitos médicos ou farmacêuticos no corpo. Os nutracêuticos ou suplementos

alimentares exemplificativos incluem, mas não se limitam a, luteína, ácido fólico, ácidos gordos (e. g., DHA e ARA), extractos de fruta e vegetais, suplementos vitamínicos e minerais, fosfatidilserina, ácido lipóico, melatonina, glucosamina/condroitina, Aloe Vera, Guggul, glutamina, aminoácidos (e. g., isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina), chá verde, licopeno, alimentos completos, aditivos alimentares, ervas, fitonutrientes, antioxidantes, constituintes flavonóides de frutos, óleo de onagra, sementes de linho, óleos de peixe e animais marinhos e probióticos. Os nutracêuticos e suplementos dietéticos também incluem alimentos de bioengenharia geneticamente modificados para ter uma propriedade desejada, também conhecidos como “alimentos farmacêuticos.”

Os agentes activos a serem administrados numa formulação de aerossol são, de um modo preferido, seleccionados do grupo consistindo de proteínas, péptidos, broncodilatadores, corticosteróides, inibidores da elastase, analgésicos, antifúngicos, terapias contra a fibrose quística, terapias contra a asma, terapias contra o enfisema, terapias contra a síndrome de insuficiência respiratória, terapias contra a bronquite crónica, terapias contra a doença pulmonar obstrutiva crónica, terapias contra a rejeição do transplante de órgãos, terapias contra a tuberculose e outras infecções do pulmão, terapias contra infecções fúngicas, terapias contra a doença respiratória associada à síndrome da imunodeficiência adquirida, um fármaco oncológico, um antiemético, um analgésico e um agente cardiovascular.

Uma descrição destas classes de agentes activos e uma listagem das espécies em cada classe podem ser encontradas em

Martindale, The Extra Pharmacopoeia, Vigésima nona edição (The Pharmaceutical Press, Londres, 1989). Os agentes activos estão comercialmente disponíveis e/ou podem ser preparados por técnicas conhecidas na matéria.

b. Agentes Activos Úteis em Aplicações Dérmicas

Os agentes activos de acordo com a presente invenção incluem, mas não se limitam a, agentes activos que podem ser utilizados em aplicações dérmicas, e. g., aplicação tópica de fármacos na derme (medicação para a acne, fármacos anti-rugas, tais como formulações de alfa-hidroxi), etc.

c. Agentes Activos Úteis em Aplicações na Mucosa

Os agentes activos exemplificativos a serem aplicados na mucosa incluem aplicações dentárias, tais como formulações bioadesivas orais de lidocaína na forma de nanopartículas, tratamentos bioadesivos de flúor na forma de nanopartículas, aplicação nos pulmões, garganta, GIT, aplicação em feridas, etc. Também está incluída a aplicação na garganta utilizando um líquido contendo uma formulação bioadesiva na forma de nanopartículas contendo, por exemplo, mentol ou outro composto anestésico para tratamento de tosse ou garganta irritada. O estômago e o GIT também podem ser tratados utilizando formulações bioadesivas. Isto é particularmente útil para tratamento de doenças associadas à mucosa do tracto gastrointestinal, tal como Doença de Chron. Outras metodologias terapêuticas farmacêuticas incluem a dosagem oral, administração

nasal, administração vaginal, administração ocular, administração colónica e subcutânea.

2. Estabilizador de Superfície de Lisozima

A escolha de um estabilizador de superfície não é trivial e geralmente requer experimentação exaustiva para concretizar uma formulação desejada. Em conformidade, a presente invenção refere-se à descoberta surpreendente que a lisozima, utilizada como um estabilizador de superfície de nanopartículas, produz composições de nanopartículas estáveis que exibem graus baixos de agregação. Esta descoberta é particularmente inesperada já que se constatou que as composições de nanopartículas que empregam outros estabilizadores de superfície proteicos, tais como caseína, albumina, γ -globulina e fibrinogénio, dão origem a dispersões instáveis com agregação concomitante e grave.

Uma vantagem inesperada das composições de nanopartículas da invenção é que é provável que as composições exibam propriedades bioadesivas. Isto resulta do facto de a lisozima ter um ponto isoeléctrico elevado ($pI = 11,35$), que provavelmente resultará em composições de nanopartículas estáveis que exibem potenciais zeta positivos, relativamente grandes.

3. Estabilizadores de Superfície Auxiliares

As composições da invenção também podem incluir um ou mais estabilizadores de superfície auxiliares ou secundários além da lisozima. De um modo preferido, os estabilizadores de superfície

auxiliares adequados podem ser seleccionados de excipientes farmacêuticos orgânicos e inorgânicos conhecidos. Tais excipientes incluem vários polímeros, oligómeros de peso molecular baixo, produtos naturais e tensioactivos. Os estabilizadores de superfície preferidos incluem tensioactivos não iónicos, iónicos, catiónicos e zwitteriónicos. Podem ser utilizados em combinação dois ou mais estabilizadores auxiliares de superfície.

Dependendo do método de administração desejado, as formulações bioadesivas de composições de nanopartículas podem ser preparadas seleccionando um ou mais estabilizadores de superfície catiónicos que confirmam propriedades bioadesivas à composição resultante.

Os exemplos representativos de estabilizadores de superfície auxiliares incluem cloreto de cetilpiridínio, gelatina, caseína, lecitina (fosfatídeos), dextrano, glicerol, goma-arábica, colesterol, tragacanta, ácido esteárico, cloreto de benzalcónio, estearato de cálcio, monoestearato de glicerol, álcool cetoestearílico, cera emulsionante cetomacrogol, ésteres de sorbitano, éteres de alquilo de polioxietileno (e. g., éteres de macrogol, tal como cetomacrogol 1000), derivados de polioxietileno e óleo de rícino, ésteres de polioxietileno e sorbitano de ácidos gordos (e. g., os Tweens[®] comercialmente disponíveis, tais como e. g., Tween 20[®] e Tween 80[®] (ICI Specialty Chemicals)); polietilenoglicóis (e. g., Carbowaxes 3350[®] e 1450[®] e Carbopol 934[®] (Union Carbide)), brometo de dodeciltrimetilamónio, estearatos de polioxietileno, dióxido de silício coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sódio, carboximetilcelulose de cálcio, hidroxipropilceluloses (e. g., HPC, HPC-SL e HPC-L), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC),

carboximetilcelulose de sódio, metilcelulose, hidroxietilcelulose, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose, celulose não cristalina, aluminossilicato de magnésio, trietanolamina, poli(álcool vinílico) (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), polímero de 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenol com óxido de etileno e formaldeído (também conhecido como tiloxapol, superione e triton), poloxâmeros (e. g., Pluronic F68[®] e F108[®], os quais são copolímeros de bloco de óxido de etileno e óxido de propileno); poloxaminas (e. g., Tetronic 908[®], também conhecido como Poloxamina 908[®], o qual é um copolímero de bloco tetrafuncional derivado de adição sequencial de óxido de propileno e óxido de etileno a etilenodiamina (BASF Wyandotte Corporation, Parsippany, N.J.)); um fosfolípido carregado tal como dimiristoilfosfatidilglicerol, laurilsulfato de sódio, dioctilsulfossuccinato (DOSS); Tetronic 1508[®] (T-1508) (BASF Wyandotte Corporation), ésteres de dialquilo de ácido sulfossuccínico de sódio (e. g., Aerosol OT[®], o qual é um éster de dioctilo de ácido sulfossuccínico de sódio (Cytec Industries, West Paterson, NJ)); Duponol P[®], o qual é um laurilsulfato de sódio (DuPont); Triton X-200[®], o qual é um sulfonato poliéter de alquilo e arilo (Union Carbide); Crodestas F-110[®], o qual é uma mistura de estearato de sacarose e diestearato de sacarose (Croda Inc.); p-isononilfenoxipoli-(glicidol), também conhecido como Olin-IOG[®] ou Surfactant 10-G[®] (Olin Chemicals, Stamford, CT); Crodestas SL-40[®] (Croda, Inc.); decanoil-N-metilglucamida; n-decil- β -D-glucopirranose; n-decil- β -D-maltopirranose; n-dodecil- β -D-glucopirranose; n-dodecil- β -D-maltósido; heptanoil-N-metilglucamida; n-heptil- β -D-glucopirranose; n-heptil- β -D-tioglucoose; n-hexil- β -D-glucopirranose; nonanoil-N-metilglucamida; n-noil- β -D-glucopirranose; octanoil-N-metilglucamida; n-octil- β -D-glucopirranose; octil- β -D-

tioglucopirranose; copolímeros aleatórios de acetato de vinilo e vinilpirrolidona, e semelhantes. Podem ser utilizados dois ou mais estabilizadores de superfície em combinação.

Exemplos de estabilizadores de superfície catiónicos úteis incluem, mas não se limitam a polímeros, biopolímeros, polissacáridos, celulósicos, alginatos, fosfolípidos e compostos não poliméricos, tais como estabilizadores zwitteriônicos, poli-n-metilpiridínio, cloreto de antrilpiridínio, fosfolípidos catiónicos, quitosano, polilisina, polivinilimidazole, polibreno, brometo de polimetilmetacrilato trimetilamónio (PMMTMABr), brometo de hexildesiltrimetilamónio (HDMAB), dimetilsulfato de polivinilpirrolidona-2-dimetilaminoetilmetacrilato, 1,2-Dipalmitoil-sn-Glicero-3-Fosfoetanolamina-N-[Amino(Poli-etilenoGlicol)2000] (sal de sódio) (também conhecido como DPPE-PEG(2000)-Amina Na) (Avanti Polar Lipids, Alabaster, Al), Poli(brometo de 2-metacriloxietiltrimetilamónio) (Polisciencences, Inc., Warrington, PA) (também conhecido como S1001), poloxaminas, tal como Tetronic 908[®], também conhecida como Poloxamina 908[®], a qual é um copolímero de bloco tetrafuncional derivado da adição sequencial de óxido de propileno e óxido de etileno a etilenodiamina (BASF Wyandotte Corporation, Parsippany, N.J.), lisozima, polímeros de cadeia longa, tais como ácido algínico, carragenina (FMC Corp.) e POLYOX (Dow, Midland, MI).

Outros estabilizadores catiónicos úteis incluem, mas não se limitam a lípidos catiónicos, compostos de sulfónio, fosfónio e amónio quaternário, tais como cloreto de esteariltrimetilamónio, brometo de benzil-di(2-cloroetil)etilamónio, cloreto ou brometo de coco-trimetilamónio, cloreto ou brometo de coco-metil-di-hidroxietilamónio, cloreto de deciltri-etilamónio, cloreto ou

brometo de decildimetil-hidroxietilamónio, cloreto ou brometo de
 dimetil C₁₂₋₁₅-hidroxietilamónio, cloreto ou brometo de coco-
 dimetil-hidroxietilamónio, metilsulfato de
 miristiltrimetilamónio, cloreto ou brometo de
 laurildimetilbenzilamónio, cloreto ou brometo de
 laurildimetil(etenoxy)₄amónio, cloreto de
 N-alquil (C₁₂₋₁₈)dimetilbenzilamónio, cloreto de
 N-alquil (C₁₄₋₁₈)dimetil-benzilamónio, mono-hidrato de
 N-tetradecildimetilbenzilamónio, cloreto de
 dimetildidecilamónio, cloreto de N-alquil e (C₁₂₋₁₄) dimetil-1-
 naftilmetilamónio, halogeneto de trimetilamónio, sais de alquil-
 trimetilamónio e sais de dialquil-dimetilamónio, cloreto de
 lauriltrimetilamónio, sal de alquilamidoalquildialquilamónio
 etoxilado e/ou um sal de trialquilamónio etoxilado, cloreto de
 dialquilbenzenodialquilamónio, Cloreto de
 N-didecildimetilamónio, mono-hidrato de cloreto de
 N-tetradecildimetilbenzilamónio, cloreto de
 N-alquil(C₁₂₋₁₄)dimetil-1-naftilmetilamónio e cloreto de
 dodecildimetilbenzilamónio, cloreto de
 dialquilbenzenoalquilamónio, cloreto de lauriltrimetilamónio,
 cloreto de alquilbenzilmetilamónio, brometo de
 alquilbenzildimetilamónio, brometos de C₁₂, C₁₅, C₁₇
 trimetilamónio, cloreto de dodecilbenziltriethylamónio, cloreto
 de poli-dialildimetilamónio (DADMAC), cloretos de dimetilamónio,
 halogenetos de alquildimetilamónio, cloreto de
 tricetilmetilamónio, brometo de deciltrimetilamónio, brometo de
 dodeciltriethylamónio, tetrabrometo de deciltrimetilamónio,
 cloreto de metiltriocetilamónio (ALIQAT 336™), POLIQUAT 10™,
 brometo de tetrabutilamónio, brometo de benziltrimetilamónio,
 ésteres de colina (tais como ésteres de colina de ácidos
 gordos), cloreto de benzalcónio, compostos de cloreto de
 estearilalcónio (tais como cloreto de esteariltrimónio e cloreto

de diestearildimónio), brometo ou cloreto de cetilpiridínio, sais de halogeneto de polioxietilalquilaminas quaternizadas, MIRAPOL™ e ALKAQUAT™ (Alkaril Chemical Company), sais de alquilpiridínio; aminas, tais como alquilaminas, dialquilaminas, alcanolaminas, polietilenopoliaminas, acrilatos de N,N-dialquilaminoalquilo, e vinilpiridina, sais de amina, tais como acetato de laurilamina, acetato de estearilamina, sal de alquilpiridínio e sal de alquilimidazólio, e óxidos de amina; sais de imidazolínio; acrilamidas quaternárias protonadas; polímeros quaternários metilados, tais como poli[cloreto de dialildimetilamónio] e poli-[cloreto de N-metilvinilpiridínio]; e goma de guar catiónica.

Tais estabilizadores de superfície catiónicos exemplificativos e outros estabilizadores de superfície catiónicos úteis são descritos em J. Cross e E. Singer, *Cationic Surfactants: Analytical and Biological Evaluation* (Marcel Dekker, 1994); P. e D. Rubingh (Editor), *Cationic Surfactants: Physical Chemistry* (Marcel Dekker, 1991); e J. Richmond, *Cationic Surfactants: Organic Chemistry*, (Marcel Dekker, 1990).

Os estabilizadores de superfície catiónicos não poliméricos são quaisquer compostos não poliméricos, tais como cloreto de benzalcónio, um composto de carbónio, um composto de fosfónio, um composto de oxónio, um composto de halónio, um composto organometálico catiónico, um composto de fósforo quaternário, um composto de piridínio, um composto de anilínio, um composto de amónio, um composto de hidroxilamónio, um composto de amónio primário, um composto de amónio secundário, um composto de amónio terciário e compostos de amónio quaternário da fórmula $NR_1R_2R_3R_4^{(+)}$. Para compostos da fórmula $NR_1R_2R_3R_4^{(+)}$:

- (i) nenhum de R_1-R_4 são CH_3 ;
- (ii) um de R_1-R_4 é CH_3 ;
- (iii) três de R_1-R_4 são CH_3 ;
- (iv) todos de R_1-R_4 são CH_3 ;
- (v) dois de R_1-R_4 são CH_3 , um de R_1-R_4 é $C_6H_5CH_2$ e um de R_1-R_4 é uma cadeia alquilo de sete átomos de carbono ou menos;
- (vi) dois de R_1-R_4 são CH_3 , um de R_1-R_4 é $C_6H_5CH_2$ e um de R_1-R_4 é uma cadeia alquilo de dezanove átomos de carbono ou mais;
- (vii) dois de R_1-R_4 são CH_3 e um de R_1-R_4 é o grupo $C_6H_5(CH_2)_n$, em que $n > 1$;
- (viii) dois de R_1-R_4 são CH_3 , um de R_1-R_4 é $C_6H_5CH_2$ e um de R_1-R_4 compreende, pelo menos, um heteroátomo;
- (ix) dois de R_1-R_4 são CH_3 , um de R_1-R_4 é $C_6H_5CH_2$ e um de R_1-R_4 compreende, pelo menos, um halogéneo;
- (x) dois de R_1-R_4 são CH_3 , um de R_1-R_4 é $C_6H_5CH_2$, e um de R_1-R_4 compreende, pelo menos, um fragmento cíclico;
- (xi) dois de R_1-R_4 são CH_3 e um de R_1-R_4 é um anel de fenilo;
- ou
- (xii) dois de R_1-R_4 são CH_3 e dois de R_1-R_4 são fragmentos puramente alifáticos.

Tais compostos incluem, mas não se limitam a, cloreto de beenalcónio, cloreto de benzetónio, cloreto de cetilpiridínio, cloreto de beentrimónio, cloreto de lauralcónio, cloreto de cetalcónio, brometo de cetrímónio, cloreto de cetrímónio, fluoridrato de cetilamina, cloreto de cloralilmetenamina (Quaternium-15), cloreto de diestearildimónio (Quaternium-5), cloreto de dodecildimetiletilbenzilamónio (Quaternium-14), Quaternium-22, Quaternium-26, Quaternium-18 hectorite, cloridrato de cloreto de dimetilaminoetilo, cloridrato de cisteína, fosfato de éter de dietanolamónio POE (10)oleílo, fosfato de éter de dietanolamónio POE (3)oleílo, cloreto de

sebo-alcónio, dimetildioctadecilamóniobentonite, cloreto de estearalcónio, brometo de domifeno, benzoato de denatónio, cloreto de miristalcónio, cloreto de laurtrimónio, dicloridrato de etilenodiamina, cloridrato de guanidina, piridoxina HCl, cloridrato de iofetamina, cloridrato de meglumina, cloreto de metilbenzetónio, brometo de mirtrimónio, cloreto de oleiltrimónio, poliquaternium-1, cloridrato de procaína, cocobetaina, estearalcónio bentonite, estearalcónio hectonite, difluoridrato de esteariltri-hidroxietilpropilenodiamina, cloreto de sebotrimónio e brometo de hexadeciltrimetilamónio.

A maioria destes estabilizadores de superfície são excipientes farmacêuticos conhecidos e são descritos em pormenor no Handbook of Pharmaceutical Excipients, publicado em conjunto pela American Pharmaceutical Association e pela The Pharmaceutical Society of Great Britain (The Pharmaceutical Press, 2000). Os estabilizadores de superfície estão comercialmente disponíveis e/ou podem ser preparados por técnicas conhecidas na matéria.

4. Tamanho de Partícula do Agente Activo/Lisoзима na Forma de Nanopartículas

As composições da invenção contêm partículas de agente activo na forma de nanopartículas as quais têm um tamanho de partícula médio efectivo inferior a 2000 nm (*i. e.*, 2 micrones), inferior a cerca de 1900 nm, inferior a cerca de 1800 nm, inferior a cerca de 1700 nm, inferior a cerca de 1600 nm, inferior a cerca de 1500 nm, inferior a cerca de 1400 nm, inferior a cerca de 1300 nm, inferior a cerca de 1200 nm, inferior a cerca de 1100 nm, inferior a cerca de 1000 nm,

inferior a cerca de 900 nm, inferior a cerca de 800 nm, inferior a cerca de 700 nm, inferior a cerca de 600 nm, inferior a cerca de 500 nm, inferior a cerca de 400 nm, inferior a cerca de 300 nm, inferior a cerca de 250 nm, inferior a cerca de 200 nm, inferior a cerca de 150 nm, inferior a cerca de 100 nm, inferior a cerca de 75 nm ou inferior a cerca de 50 nm, como medido por métodos de dispersão de luz, microscopia ou outros métodos apropriados.

Por “um tamanho de partícula médio efectivo inferior a 2000 nm” pretende-se referir que, pelo menos, 50% em peso das partículas de agente activo têm um tamanho de partícula inferior à média efectiva, *i. e.*, inferior a 2000 nm, 1900 nm, 1800 nm, etc., quando medido pelas técnicas acima mencionadas. Noutras formas de realização da invenção, pelo menos cerca de 70%, pelo menos, cerca de 90% ou, pelo menos, cerca de 95% das partículas de agente activo têm um tamanho de partícula inferior à média efectiva, *i. e.*, inferior a 2000 nm, 1900 nm, 1800 nm, etc.

5. Concentração de Agente Activo na Forma de Nanopartículas e Estabilizador

As quantidades relativas de agente activo e lisozima, e opcionalmente de um ou mais estabilizadores de superfície secundários, podem variar muito. A quantidade óptima dos componentes individuais pode depender, por exemplo, do agente activo particular seleccionado, do equilíbrio hidrófilo lipófilo (HLB), ponto de fusão e da tensão superficial das soluções aquosas do estabilizador, etc.

A concentração de lisozima pode variar desde cerca de 0,5% a cerca de 99,999%, desde cerca de 5,0% a cerca de 99,9% ou desde cerca de 10% a cerca de 99,5%, em peso, com base na peso seco total combinado do pelo menos um agente activo e lisozima, não incluindo outros excipientes.

A concentração do agente activo pode variar desde cerca de 99,5% a cerca de 0,001%, desde cerca de 95% a cerca de 0,1 % ou desde cerca de 90% a cerca de 0,5%, em peso, com base na massa seca total combinada do agente activo e estabilizador de superfície, não incluindo outros excipientes.

B. Métodos de Preparação de Formulações de Nanopartículas

As composições de agente activo na forma de nanopartículas podem ser preparadas utilizando, por exemplo, técnicas de moagem, homogeneização ou precipitação. Métodos de preparação de composições de nanopartículas exemplificativos são descritos na patente '684. Métodos de preparação de composições de nanopartículas são também descritos na Patente U.S. nº 5518187 sobre "Método de Trituração de Substâncias Farmacêuticas;" Patente U.S. nº 5718388 sobre "Método Contínuo de Trituração de Substâncias Farmacêuticas;" Patente U.S. nº 5862999 sobre "Método de Trituração de Substâncias Farmacêuticas;" Patente U.S. nº 5665331 sobre "Co-Microprecipitação de Agentes Farmacêuticos em Nanopartículas com Modificadores de Crescimento Cristalino;" Patente U.S. nº 5662883 sobre "Co-Microprecipitação de Agentes Farmacêuticos em Nanopartículas com Modificadores de Crescimento Cristalino;" Patente U.S. nº 5560932 sobre "Microprecipitação de Agentes Farmacêuticos em Nanopartículas;" Patente U.S. nº 5543133 sobre "Processo de Preparação de

Composições de Contraste de Raios X Contendo Nanopartículas;" Patente U.S. nº 5534270 sobre "Método de Preparação de Nanopartículas Estáveis de Fármaco;" Patente U.S. nº 5510118 sobre "Processo de Preparação de Composições Terapêuticas Contendo Nanopartículas;" e Patente U.S. nº 5470583 sobre "Método de Preparação de Composições de Nanopartículas Contendo Fosfolípidos Carregados para Reduzir a Agregação".

As composições de agente activo na forma de nanopartículas resultantes podem ser utilizadas em formulações de dosagem sólida ou líquida, tais como formulações de libertação controlada, formulações de dose sólidas de fusão rápida, formulações de aerossol, formulações nasais, formulações liofilizadas, comprimidos, cápsulas, pastilhas sólidas, pós, cremes, pomadas, etc.

1. Moagem para obter Dispersões de Agente activo em Nanopartículas

A moagem do agente activo para obter uma dispersão de nanopartículas compreende a dispersão das partículas de agente activo num meio de dispersão líquido no qual o agente activo é pouco solúvel, seguida de aplicação de meios mecânicos na presença de um meio de trituração para reduzir o tamanho de partícula do agente activo até ao tamanho de partícula médio efectivo desejado. O meio de dispersão pode ser, por exemplo, água, óleo de açafrão-bastardo, etanol, t-butanol, glicerina, polietilenoglicol (PEG), hexano ou glicol.

As partículas de agente activo podem ser reduzidas em tamanho na presença de lisozima. Alternativamente, as partículas

de agente activo podem ser postas em contacto com lisozima após desgaste. Também podem ser adicionados um ou mais estabilizadores de superfície secundários antes ou depois do desgaste. Podem ser adicionados outros compostos, tal como um diluente, à composição de agente activo/estabilizador de superfície durante o processo de redução de tamanho. As dispersões podem ser fabricadas continuamente ou num modo em lote.

2. Precipitação para Obter Composições de Agente Activo em Nanopartículas

Outro método de preparação da composição de nanopartículas desejada é por microprecipitação. Este é um método de preparação de dispersões estáveis de agentes activos pouco solúveis na presença de um ou mais estabilizadores de superfície e um ou mais agentes tensioactivos promotores da estabilidade de colóides isentos de quaisquer vestígios de solventes tóxicos ou impurezas de metais pesados solubilizados. Um tal método compreende, por exemplo: (1) dissolver o agente activo pouco solúvel num solvente adequado; (2) adicionar a formulação do passo (1) a uma solução compreendendo lisozima e, opcionalmente, um ou mais estabilizadores de superfície secundários, para formar uma solução transparente; e (3) precipitar a formulação do passo (2) utilizando um não solvente apropriado. O método pode ser seguido da remoção de qualquer sal formado, se presente, por diálise ou diafiltração e concentração da dispersão por meios convencionais.

3. Homogeneização para Obter Composições de Agente Activo em Nanopartículas

Métodos de homogeneização exemplificativos para preparar composições de agente activo em nanopartículas são descritos na Patente U.S. nº 5510118, sobre "Processo de Preparação de Composições Terapêuticas Contendo Nanopartículas."

Um tal método compreende a dispersão das partículas de agente activo num meio de dispersão líquido no qual o agente activo é pouco solúvel, seguida da submissão da dispersão a homogeneização para reduzir o tamanho de partícula do agente activo ao tamanho de partícula médio efectivo desejado. As partículas de agente activo podem ser reduzidas em tamanho na presença de lisozima e, se desejado, um ou mais estabilizadores de superfície adicionais. Alternativamente, as partículas de agente activo podem ser postas em contacto com lisozima e, se desejado, um ou mais estabilizadores de superfície adicionais antes ou depois do desgaste. Podem ser adicionados outros compostos, tal como um diluente, à composição de agente activo/lisozima antes, durante ou após o processo de redução de tamanho. As dispersões podem ser fabricadas continuamente ou num modo de lote.

C. Métodos de Utilização de Formulações de Agente Activo em Nanopartículas

As composições de nanopartículas da presente invenção podem ser administradas a humanos e animais via qualquer meio convencional incluindo, mas não se limitando a via oral, rectal, ocular, parentérica (intravenosa, intramuscular ou subcutânea),

intracisternal, pulmonar, intravaginal, intraperitoneal, local (pós, pomadas ou gotas), ou como uma formulação para pulverização bucal ou nasal.

As composições adequadas para injeção parentérica podem compreender soluções, dispersões, suspensões ou emulsões aquosas ou não aquosas estéreis fisiologicamente aceitáveis e pós estéreis para reconstituição em soluções ou dispersões estéreis, injectáveis. Exemplos de portadores, diluentes, solventes ou veículos aquosos e não aquosos adequados incluem água, etanol, polióis (propilenoglicol, polietilenoglicol, glicerol e semelhantes), suas misturas adequadas, óleos vegetais (tal como azeite) e ésteres orgânicos injectáveis, tal como oleato de etilo. A fluidez apropriada pode ser mantida, por exemplo, através da utilização de um revestimento, tal como lecitina, através da manutenção do tamanho de partícula necessário no caso de dispersões e através da utilização de tensioactivos.

As composições de nanopartículas também podem conter adjuvantes, tais como conservantes, humectantes, emulsionantes e dispersantes. A prevenção do crescimento de microrganismos pode ser assegurada por vários agentes antibacterianos e antifúngicos, tais como parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico e semelhantes. Também pode ser desejável incluir agentes isotónicos, tais como açúcares, cloreto de sódio e semelhantes. A absorção prolongada da forma farmacêutica injectável pode ser conseguida pela utilização de agentes que retardam a absorção, tais como monoestearato de alumínio e gelatina.

As formas de dosagem sólidas para administração oral incluem cápsulas, comprimidos, pílulas, pós e granulados. Nessas formas de dosagem sólidas, o agente activo é misturado com, pelo

menos, um dos seguintes: (a) um ou mais excipientes (ou veículos) inertes, tais como citrato de sódio ou fosfato dicálcico; (b) enchimentos ou diluentes, tais como amidos, lactose, sacarose, glucose, manitol e ácido silícico; (c) aglutinantes, tais como carboximetilcelulose, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarose e goma-arábica; (d) humectantes, tal como glicerol; (e) desintegrantes, tais como ágar-ágar, carbonato de cálcio, amido de batata ou mandioca, ácido algínico, determinados silicatos complexos e carbonato de sódio; (f) retardantes de solução, tal como parafina; (g) aceleradores da absorção, tais como compostos de amónio quaternário; (h) humectantes, tais como álcool cetílico e monoestearato de glicerol; (i) adsorventes, tais como caulino e bentonite; e (j) lubrificantes, tais como talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietilenoglicóis sólidos, laurilsulfato de sódio ou suas misturas. Para cápsulas, comprimidos e pílulas, as formas de dosagem também podem compreender agentes de tamponamento.

As formas de dosagem líquidas para administração oral incluem emulsões, soluções, suspensões, xaropes e elixires farmacêuticamente aceitáveis. Além do agente activo, as formas de dosagem líquidas podem compreender diluentes inertes geralmente utilizados na técnica, tal como água ou outros solventes, solubilizantes e emulsionantes. Os emulsionantes exemplificativos são álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, álcool benzílico, benzoato de benzilo, propilenoglicol, 1,3-butilenoglicol, dimetilformamida, óleos, tais como óleo de semente de algodão, óleo de amendoim, óleo de gérmen de milho, azeite, óleo de rícino e óleo de sésamo, glicerol, álcool

tetra-hidrofurfurílico, polietilenoglicóis, ésteres de sorbitano de ácidos gordos ou misturas destas substâncias, e semelhantes.

Além desses diluentes inertes, a composição também pode incluir adjuvantes, tais como humectantes, emulsionantes e agentes de suspensão, edulcorantes, agentes de sabor e aromatizantes.

Os níveis de dosagem efectivos de agente activo nas composições de nanopartículas da invenção podem ser modificados para se obter uma quantidade de agente activo que é eficaz na obtenção de uma resposta terapêutica desejada para uma composição e método de administração particulares. Por conseguinte, o nível de dosagem seleccionado depende do efeito terapêutico desejado, da via de administração, da potência do agente activo administrado, da duração de tratamento desejada e de outros factores.

As composições unitárias de dosagem podem conter quantidades ou seus submúltiplos que permitam ser utilizadas para preparar a dose diária. No entanto, entender-se-á que o nível de dose específica para qualquer doente particular dependerá de uma variedade de factores incluindo o peso corporal, estado físico geral, género, dieta, momento e via de administração, potência do agente activo administrado, velocidades de absorção e excreção, combinação com outros agentes activos e a gravidade da doença particular a ser tratada.

Os exemplos seguintes são dados para ilustrar a presente invenção.

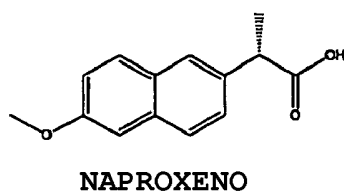
Nos exemplos que se seguem, o valor para o D50 é o tamanho de partícula abaixo do qual caem 50% das partículas de agente activo. Analogamente, o D90 é o tamanho de partícula abaixo do qual caem 90% das partículas de agente activo.

As formulações nos exemplos que se seguem também foram investigadas utilizando um microscópio óptico. Aqui, dispersões de nanopartículas “estáveis” (movimento Browniano uniforme) foram facilmente distinguidas das dispersões “agregadas” (partículas relativamente grandes, não uniformes sem movimento).

Exemplo 1

O objectivo deste exemplo foi preparar formulações de nanopartículas de naproxeno utilizando diferentes proteínas como estabilizadores de superfície.

O Naproxeno é um anti-inflamatório, analgésico e antipirético possuindo a seguinte estrutura química:



O composto tem um peso molecular de 230,3 g e uma solubilidade em água de 16 µg/mL a pH 2 e 3,2 mg/mL a pH 7,5.

Uma dispersão aquosa a 1% em peso de estabilizador de superfície proteico (ver Quadro 1, abaixo) e 5% em peso de naproxeno foi carregada para uma câmara de lote de 10 mL de um

NanoMill® (Elan Pharmaceutical Technologies, Inc.) (Ver e. g., documento WO 00/72973 sobre “Moinho de Pequena Escala e Método para Aquele.” A moagem foi realizada a 5000 rpm a 5 °C. Os resultados são mostrados a seguir no Quadro 1.

QUADRO 1				
Proteína	Tamanho de Partícula Médio (nm)	Tamanho de Partícula D50 (nm)	Tamanho de Partícula D90 (nm)	Microscópio
fibrinogénio	18651	16189	32027	Agregada
γ-globulina	24453	16201	49416	Agregada
albumina	13559	11073	20974	Agregada
caseína	22768	11852	59611	Agregada
lisozima	81	78	114	Estável

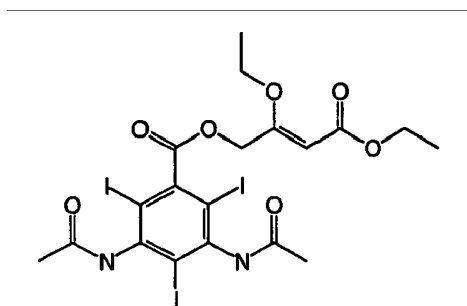
Os resultados demonstram que apenas a lisozima foi capaz de actuar como um estabilizador de superfície para formar uma composição estável de nanopartículas de naproxeno. As composições de nanopartículas de naproxeno e lisozima tinham um tamanho de partícula médio de 81 nm, com um D50 e D90 de 78 nm e 114 nm, respectivamente.

Pelo contrário, todos os outros estabilizadores proteicos resultaram em composições de naproxeno possuindo tamanhos de partícula grandes (*i. e.*, tamanhos de partícula médios de cerca de 13,6 a 22,8 µm (micrones), tamanhos de partícula D50 de 11,1 a 16,2 micrones e tamanhos de partícula D90 de 21,0 a 59,6 micrones).

Exemplo 2

O objectivo deste exemplo foi preparar formulações de nanopartículas do agente de contraste de raios X éster de 3,5-bis(acetilamino)-2,4,6-triodo-4-(etil-3-etoxi-2-butenato) do ácido benzóico (WIN 68209) utilizando vários estabilizadores de superfície proteicos.

O WIN 68209 tem a seguinte estrutura química:



Uma dispersão aquosa a 1% em peso de estabilizador de superfície proteico (ver Quadro 2, abaixo) e 5% em peso de WIN 68209 foi transferida para uma câmara de lote de 10 mL de um NanoMill® (Elan Pharmaceutical Technologies, Inc.). A moagem foi realizada a 5500 rpm a 5 °C. Os resultados são mostrados a seguir no Quadro 2.

QUADRO 2				
Proteína	Tamanho de Partícula Médio (nm)	Tamanho de Partícula D50 (nm)	Tamanho de Partícula D90 (nm)	Microscópio
fibrinogénio	6044	5695	10744	Agregada
γ-globulina	4685	4334	8726	Agregada
albumina	8290	7472	15137	Agregada
caseína	5407	4571	10094	Agregada

QUADRO 2				
Proteína	Tamanho de Partícula Médio (nm)	Tamanho de Partícula D50 (nm)	Tamanho de Partícula D90 (nm)	Microscópio
lisozima	82	78	116	Estável

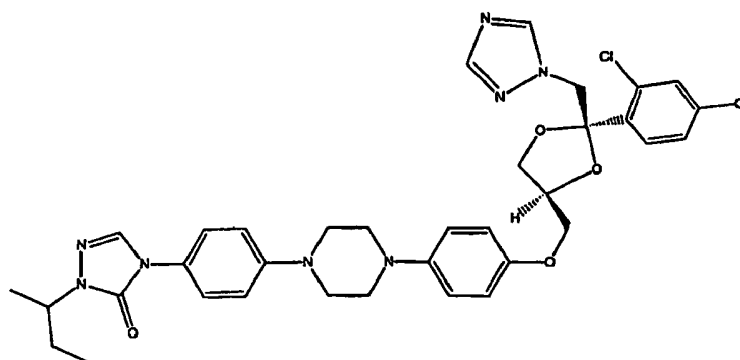
Os resultados demonstram que apenas a lisozima foi capaz de actuar como um estabilizador de superfície para formar uma composição estável de nanopartículas de WIN 68209. As composições de nanopartículas de WIN 68209 e lisozima tinham um tamanho de partícula médio de 82 nm, com um D50 e D90 de 78 nm e 116 nm, respectivamente.

Pelo contrário, todos os outros estabilizadores proteicos resultaram em composições de WIN 68209 possuindo tamanhos de partícula grandes (i. e., tamanhos de partícula médios de cerca de 4,7 a 8,3 micrones, tamanhos de partícula D50 de 4,3 a 7,5 micrones e tamanhos de partícula D90 de 8,7 a 15 micrones).

Exemplo 3

O objectivo deste exemplo foi preparar formulações de nanopartículas de itraconazole utilizando vários estabilizadores de superfície proteicos.

O itraconazole é um composto antifúngico possuindo a seguinte estrutura:



ITRACONAZOLE

Uma dispersão aquosa a 1% em peso de estabilizador de superfície proteico (ver Quadro 3, abaixo) e 5% em peso de itraconazole (Wyckoff, Inc., South Haven, Michigan; Itraconazole em pó, N° Lote IT-01L01-P, Data de Fabrico: 4-Nov-2001) foi carregada para uma câmara de lote de 10 mL de um NanoMill® (Elan Pharmaceutical Technologies, Inc.). A moagem foi realizada a 5500 rpm a 5 °C. Os resultados são mostrados a seguir no Quadro 3.

QUADRO 3				
Proteína	Média (nm)	D50 (nm)	D90 (nm)	Microscópio
fibrinogénio	4187	3745	7986	Agregada
γ-globulina	10949	9284	20623	Agregada
albumina	9219	7963	18969	Agregada
caseína	6289	5735	11222	Agregada
lisozima	930	450	1937	Estável

Os resultados demonstram que apenas a lisozima foi capaz de actuar como um estabilizador de superfície para formar uma composição estável de nanopartículas de itraconazole. As composições de nanopartículas de itraconazole e lisozima tinham um tamanho de partícula médio de 930 nm, com um D50 e D90 de 450 nm e 1937 nm, respectivamente.

Pelo contrário, todos os outros estabilizadores proteicos resultaram em composições de itraconazole possuindo tamanhos de partícula grandes (*i. e.*, tamanhos de partícula médios de 4,2 a 10,9 micrones, tamanhos de partícula D50 de 3,7 a 9,3 micrones e tamanhos de partícula D90 de 8,0 a 20,6 micrones).

Exemplo 4

O objectivo deste exemplo foi preparar formulações de nanopartículas de prednisolona utilizando vários estabilizadores de superfície proteicos. A prednisolona, uma hormona esteróide, é um análogo desidrogenado de cortisol (hidrocortisona).

Uma dispersão aquosa a 1% em peso de estabilizador de superfície proteico (ver Quadro 4, abaixo) e 5% em peso de acetato de prednisolona foi carregada para uma câmara de lote de 10 mL de um NanoMill® (Elan Pharmaceutical Technologies, Inc.). A moagem foi realizada a 5500 rpm a 5 °C. Os resultados são mostrados a seguir no Quadro 4.

QUADRO 4				
Proteína	Média (nm)	D50 (nm)	D90 (nm)	Microscópio
fibrinogénio	5356	5221	8910	Agregada
γ-globulina	5008	4801	8895	Agregada
albumina	27817	18120	58730	Agregada
caseína	13394	4173	13278	Agregada
lisozima	143	139	191	Estável

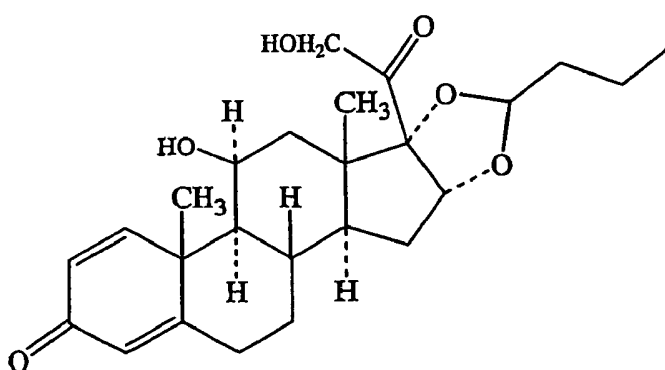
Os resultados demonstram que apenas a lisozima foi capaz de actuar como um estabilizador de superfície para formar uma

composição estável de nanopartículas de acetato de prednisolona. As composições de nanopartículas de acetato de prednisolona e lisozima tinham um tamanho de partícula médio de 143 nm, com um D50 e D90 de 139 nm e 191 nm, respectivamente.

Pelo contrário, todos os outros estabilizadores proteicos resultaram em composições de acetato de prednisolona possuindo tamanhos de partícula grandes (*i. e.*, tamanhos de partícula médios de 5,0 a 27,8 micrones, tamanhos de partícula D50 de 4,8 a 18,1 micrones e tamanhos de partícula D90 de 8,9 a 58,7 micrones).

Exemplo 5

O objectivo deste exemplo foi preparar formulações de nanopartículas de budesonida utilizando vários estabilizadores de superfície proteicos. A budesonida, a qual é um corticosteróide, tem a seguinte estrutura química:



Uma dispersão aquosa de 1% em peso de estabilizador de superfície proteico (ver Quadro 5, abaixo) e 5% em peso de

budesonida foi carregada para uma câmara de lote de 10 mL de um NanoMill® (Elan Pharmaceutical Technologies, Inc.). A moagem foi realizada a 5500 rpm a 5 °C. Os resultados são mostrados a seguir no Quadro 5.

QUADRO 5				
Proteína	Média (nm)	D50 (nm)	D90 (nm)	Microscópio
fibrinogénio	5113	4566	9594	Agregada
γ-globulina	6168	4703	11786	Agregada
albumina	6946	5826	14160	Agregada
caseína	16302	6340	31346	Agregada
lisozima	393	328	565	Estável

Os resultados demonstram que apenas a lisozima foi capaz de actuar como um estabilizador de superfície para formar uma composição estável de nanopartículas de budesonida. As composições de nanopartículas de budesonida e lisozima tinham um tamanho de partícula médio de 393 nm, com um D50 e D90 de 328 nm e 565 nm, respectivamente.

Pelo contrário, todos os outros estabilizadores proteicos resultaram em composições de budesonida possuindo tamanhos de partícula grandes (*i. e.*, tamanhos de partícula médios de 5,1 a 16,3 micrones, tamanhos de partícula D50 de 4,6 a 6,3 micrones e tamanhos de partícula D90 de 9,6 a 31,3 micrones).

Exemplo 6

O objectivo deste exemplo foi preparar formulações de nanopartículas de luteína, utilizando lisozima como um

estabilizador de superfície proteico. A luteína é um carotenóide presente em vegetais e frutos. A luteína actua como um antioxidante, protegendo as células contra os efeitos prejudiciais dos radicais livres. O composto tem a fórmula química $C_{40}H_{52}O_2$ e um peso molecular de 568,88.

Uma dispersão aquosa a 1% em peso de lisozima e 5% em peso de luteína foi transferida para uma câmara de lote de 10 mL de um NanoMill® (Elan Pharmaceutical Technologies, Inc.). A moagem foi realizada a 5500 rpm a 5 °C. Os resultados são mostrados a seguir no Quadro 6.

QUADRO 6				
Proteína	Média (nm)	D50 (nm)	D90 (nm)	Microscópio
lisozima	561	534	800	Estável

Os resultados demonstram que a lisozima foi capaz de actuar como um estabilizador de superfície para formar uma composição estável de nanopartículas de luteína. As composições de nanopartículas de luteína e lisozima tinham um tamanho de partícula médio de 561 nm, com um D50 e D90 de 534 nm e 800 nm, respectivamente.

Exemplo 7

O objectivo deste exemplo foi preparar formulações de nanopartículas de vários ingredientes farmacêuticos activos (API) utilizando lisozima como um estabilizador de superfície.

Uma dispersão aquosa a 1% em peso de lisozima (ver Quadro 7, abaixo) e 5% em peso de API foi transferida para um

NanoMill™ equipado com uma câmara de lote de 10 mL ou um DynoMill® (Tipo: KDL; Mfg.: Willy Bachofen, Basel, Suíça) equipado com uma câmara de lote de 150 mL. No caso do NanoMill™, as velocidades do moinho variaram de 2000 a 5500 rpm, enquanto no DynoMill®, a moagem foi realizada a 4200 rpm. Em ambos os moinhos, a temperatura foi mantida a 5 °C, enquanto o tempo total de moagem variou de 0,5 a 2 horas. Após a moagem foram medidos os tamanhos de partícula médios, D50 e D90 para cada amostra de API moído. Cada composição moída também foi avaliada via um microscópio para detectar qualquer agregação. Os resultados são mostrados a seguir no Quadro 7.

QUADRO 7							
API	Média (nm)	D50 (nm)	D90 (nm)	Microscópio	Moinho	Velocidade moinho (rpm)	Tempo de moagem (h)
Composto A	141	119	228	Estável	Nano	5500	2
Composto B	191	183	265	Estável	Nano	5500	1
Composto C	201	180	289	Estável	Nano	5500	2
Composto D	795	384	1948	Estável	Nano	5500	0,5
Composto E	338	304	501	Estável	Nano	5500	1
Composto F	110	104	169	Estável	Nano	5500	0,5
Composto G	264	252	352	Estável	Nano	5500	0,5
Policosanol	1357	553	3599	Estável	Nano	5500	2
Peróxido de Benzoílo	122	110	196	Estável	Nano	5500	1
Triamcinolona	114	107	172	Estável	Nano	2500	0,5
Paclitaxel	141	130	190	Estável	Nano	4000	0,5
Sulfato de Bário	277	268	377	Estável	Dyno	4200	1,5
Cetoprofeno	85	84	114	Estável	Dyno	4200	1

Os resultados demonstram que a lisozima é capaz de actuar como um estabilizador de superfície para formar uma composição

estável de nanopartículas com cada um dos compostos API. As composições de nanopartículas dos vários compostos API e lisozima tinham tamanhos de partícula médios que variavam de 85 a 1357 nm, com tamanhos D50 e D90 que variavam de 84 a 553 nm e 114 a 3599 nm, respectivamente.

Exemplos 8

O objectivo deste exemplo foi preparar uma dispersão de nanopartículas de propionato de fluticasona utilizando lisozima como um estabilizador de superfície.

O propionato de fluticasona é um corticosteróide trifluorado, sintético possuindo o nome químico de S-fluorometil-6 α ,9-difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxoandrosta-1,4-dieno-17 β -carbotioato, 17-propionato e a fórmula empírica C₂₅H₃₁F₃O₅S. É praticamente insolúvel em água.

Uma mistura de 5% m/m de propionato de fluticasona e 2% de lisozima foi moída durante 30 min. em condições de moagem de alta energia num NanoMill® (Elan Drug Delivery, Inc.) munido com uma câmara de lote de 18 mL. No processo de moagem foi utilizado um meio de atrito polimérico de 500 μ m (The Dow Chemical Co., Midland, MI).

A análise do tamanho de partícula da composição de propionato de fluticasona moída, realizada utilizando um analisador de tamanho de partícula Horiba LA-910 (Irvine, CA) mostrou um tamanho de partícula médio final de propionato de fluticasona de 311 nm.

Lisboa, 9 de Julho de 2010

REIVINDICAÇÕES

1. Composição de nanopartículas compreendendo pelo menos um agente terapêutico ou de diagnóstico, possuindo lisozima adsorvido na sua superfície numa quantidade suficiente para manter as partículas de agente activo num tamanho de partícula médio efectivo inferior a 2000 nm.
2. Composição da reivindicação 1, em que o pelo menos um agente terapêutico ou de diagnóstico é seleccionado do grupo consistindo de proteínas, péptidos, nutracêuticos, carotenóides, agentes antiobesidade, corticosteróides, inibidores da elastase, analgésicos, antifúngicos, terapias oncológicas, antiemético, agentes cardiovasculares, agentes anti-inflamatórios, anti-helmínticos, agentes antiarrítmicos, antibióticos, anticoagulantes, antidepressivos, agentes antidiabéticos, antiepilépticos, anti-histamínicos, agentes anti-hipertensivos, agentes antimuscarínicos, agentes antimicobacterianos, agentes antineoplásicos, imunossuppressores, agentes antitiróide, agentes antivirais, sedativos ansiolíticos, adstringentes, agentes bloqueadores do receptor beta-adrenérgico, produtos e substitutos sanguíneos, agentes inotrópicos cardíacos, meios de contraste, supressores da tosse, agentes de diagnóstico, agentes de imagiologia de diagnóstico, diuréticos, dopaminérgicos, hemostáticos, agentes imunológicos, agentes reguladores de lípidos, relaxantes musculares, parassimpatomiméticos, paratiróide, calcitonina e bifosfonatos, prostaglandinas, radiofármacos, hormonas sexuais, agentes antialérgicos, estimulantes e anorécticos, simpatomiméticos, agentes da tiróide, vasodilatadores,

xantinas, medicação para a acne, formulações de alfa-hidroxi, terapias contra a fibrose quística, terapias contra a asma, terapias contra o enfisema, terapias contra a síndrome de insuficiência respiratória, terapias contra a bronquite crónica, terapias contra a doença pulmonar obstrutiva crónica, terapias contra a rejeição do transplante de órgãos, terapias contra a tuberculose e outras infecções do pulmão, e terapias contra a doença respiratória associada à síndrome da imunodeficiência adquirida.

3. Composição da reivindicação 1 ou 2, em que a composição é formulada para administração seleccionada do grupo consistindo de administração vaginal, ocular, nasal, bucal, oral, colónica, tópica e parentérica.
4. Composição de qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o pelo menos um agente activo está presente numa quantidade seleccionada do grupo consistindo de 99,5% a 0,001%, de 95% a 0,1% e de 90% a 0,5%, em peso com base no peso total combinado do agente activo e estabilizador de superfície, não incluindo outros excipientes.
5. Composição de qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a lisozima está presente numa quantidade seleccionada do grupo consistindo desde 0,5% a 99,999%, desde 5,0% a 99,9% e desde 10% a 99,5%, em peso, com base no peso seco total combinado do agente activo e lisozima, não incluindo outros excipientes.
6. Composição de qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o pelo menos um agente activo é seleccionado do

grupo consistindo de uma fase cristalina, uma fase amorfa ou suas misturas.

7. Composição de qualquer uma das reivindicações anteriores, compreendendo ainda, pelo menos, um estabilizador de superfície secundário o qual não é a lisozima.
8. Composição da reivindicação 7, em que o estabilizador de superfície secundário é seleccionado do grupo consistindo de um estabilizador de superfície aniónico, um estabilizador de superfície catiónico e um estabilizador de superfície iónico.
9. Composição da reivindicação 8, em que o pelo menos um estabilizador de superfície secundário é seleccionado do grupo consistindo de cloreto de cetilpiridínio, gelatina, caseína, fosfatídeos, dextrano, glicerol, goma-arábica, colesterol, tragacanta, ácido esteárico, cloreto de benzalcónio, estearato de cálcio, monoestearato de glicerol, álcool cetoestearílico, cera emulsionante cetomacrogol, ésteres de sorbitano, éteres de alquilo de polioxietileno, derivados de polioxietileno e óleo de rícino, ésteres de polioxietileno e sorbitano de ácido gordo, polietilenoglicóis, brometo de dodeciltrimetilamónio, estearatos de polioxietileno, dióxido de silício coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sódio, carboximetilcelulose de cálcio, hidroxipropilceluloses, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose de sódio, metilcelulose, hidroxietilcelulose, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose, celulose não cristalina, aluminossilicato de magnésio, trietanolamina, poli(álcool vinílico),

polivinilpirrolidona, polímero de 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenol com óxido de etileno e formaldeído, poloxâmeros; poloxaminas, um fosfolípido carregado, dioctilsulfossuccinato, ésteres dialquílicos de ácido sulfossuccínico de sódio, laurilsulfato de sódio, poliéter sulfonatos alquílicos e arílicos, misturas de estearato de sacarose e diestearato de sacarose, p-isononilfenoxipoli-(glicidol), decanoil-N-metilglucamida; n-decil- β -D-glucopirranose; n-decil- β -D-maltopirranose; n-dodecil- β -D-glucopirranose; n-dodecil- β -D-maltósico; heptanoil-N-metilglucamida; n-heptil- β -D-glucopirranose; n-heptil- β -D-tioglucoose; n-hexil- β -D-glucopirranose; nonanoil-N-metilglucamida; n-noil- β -D-glucopirranose; octanoil-N-metilglucamida; n-octil- β -D-glucopirranose; octil- β -D-tioglucopirranose; e copolímeros aleatórios de acetato de vinilo e vinilpirrolidona.

10. Composição da reivindicação 8, em que o pelo menos um estabilizador de superfície catiónico é seleccionado do grupo consistindo de um polímero, um biopolímero, um polissacárido, um produto celulósico, um alginato, um composto não polimérico, um fosfolípido, estabilizadores zwitteriónicos, poli-n-metilpiridínio, cloreto de antrilpiridínio, quitosano, polilisina, polivinilimidazole, polibreno, brometo de polimetilmetacrilato trimetilamónio (PMMTMABr), brometo de hexildesiltrimetilamónio (HDMAB), dimetilsulfato de polivinilpirrolidona-2-dimetilaminoetilmetacrilato, 1,2-Dipalmitoil-sn-Glicero-3-Fosfoetanolamina-N-[Amino(PolietilenoGlicol)2000] (sal de sódio), Poli(brometo de 2-metacriloxietiltrimetilamónio), poloxaminas, ácido algínico, carragenina e POLYOX.

11. Composição da reivindicação 8 ou 10, em que o pelo menos um estabilizador de superfície catiónico é seleccionado do grupo consistindo de lípidos catiónicos, compostos de sulfónio, fosfónio e amónio quaternário, cloreto de esteariltrimetilamónio, brometo de benzil-di(2-cloroetil)etilamónio, cloreto de trimetilamónio de coco, brometo de trimetilamónio de coco, cloreto de metildi-hidroxi-etilamónio de coco, brometo de metildi-hidroxi-etilamónio de coco, cloreto de deciltri-etilamónio, cloreto de decildimetil-hidroxi-etilamónio, brometo de decildimetil-hidroxi-etilamónio, cloreto de dimetil C₁₂₋₁₅-hidroxi-etilamónio, brometo de dimetil C₁₂₋₁₅-hidroxi-etilamónio, cloreto de dimetil-hidroxi-etilamónio de coco, brometo de dimetil-hidroxi-etilamónio de coco, metilsulfato de miristiltrimetilamónio, cloreto de laurildimetilbenzilamónio, brometo de laurildimetilbenzilamónio, cloreto de laurildimetil-(etenoxi)₄amónio, brometo de laurildimetil-(etenoxi)₄amónio, cloreto de N-alquil (C₁₂₋₁₈)dimetilbenzilamónio, cloreto de N-alquil (C₁₄₋₁₈)dimetil-benzilamónio, mono-hidrato de cloreto de N-tetradecildimetilbenzilamónio, cloreto de dimetildidecilamónio, cloreto de N-alquil e (C₁₂₋₁₄) dimetil-1-naftilmetilamónio, halogeneto de trimetilamónio, sais de alquil-trimetilamónio, sais de dialquil-dimetilamónio, cloreto de lauriltrimetilamónio, sal de alquilamidoalquildialquilamónio etoxilado, um sal de trialquilamónio etoxilado, cloreto de dialquilbenzenodialquilamónio, cloreto de N-didecildimetilamónio, cloreto de N-alquil(C₁₂₋₁₄)dimetil-1-naftilmetilamónio, cloreto de dodecildimetilbenzilamónio, cloreto de dialquilbenzenoalquilamónio, cloreto de lauriltrimetilamónio, cloreto de alquilbenzilmetilamónio,

brometo de alquilbenzildimetilamónio, brometos de C₁₂, C₁₅, C₁₇ trimetilamónio, cloreto de dodecilbenziltriethylamónio, cloreto de poli-dialildimetilamónio (DADMAC), cloretos de dimetilamónio, halogenetos de alquildimetilamónio, cloreto de tricetilmetilamónio, brometo de deciltrimetilamónio, brometo de dodeciltriethylamónio, tetrabrometo de deciltrimetilamónio, cloreto de metiltriethylamónio, POLIQUAT 10™, brometo de tetrabutylamónio, brometo de benziltrimetilamónio, ésteres de colina, cloreto de benzalcónio, compostos de cloreto de estearilalcónio, brometo de cetilpiridínio, cloreto de cetilpiridínio, sais de halogeneto de polioxietilalquilaminas quaternizadas, NIRWOL™, ALKAQUA™, sais de alquilpiridínio, aminas, acrilamidas quaternárias protonadas, polímeros quaternários metilados e goma de guar catiónica.

12. Composição da reivindicação 11, em que a amina é seleccionada do grupo consistindo de alquilaminas, dialquilaminas, alcanolaminas, polietilenopoliaminas, acrilatos de N,N-dialquilaminoalquilo, vinilpiridina, sais de amina, acetato de laurilamina, acetato de estearilamina, sal de alquilpiridínio, sal de alquilimidazólio, óxidos de amina e sais de imidazolínio.
13. Composição da reivindicação 10, em que o estabilizador de superfície catiónico é um composto não polimérico seleccionado do grupo consistindo de cloreto de benzalcónio, um composto de carbónio, um composto de fosfónio, um composto de oxónio, um composto de halónio, um composto organometálico catiónico, um composto de fósforo quaternário, um composto de piridínio, um composto de anilínio, um composto de amónio, um composto de

hidroxilamónio, um composto de amónio primário, um composto de amónio secundário, um composto de amónio terciário, cloreto de beenalcónio, cloreto de benzetónio, cloreto de cetilpiridínio, cloreto de beentrimónio, cloreto de lauralcónio, cloreto de cetalcónio, brometo de cetrímónio, cloreto de cetrímónio, fluoridrato de cetilamina, cloreto de cloralilmetenamina (Quaternium-15), cloreto de diestearildimónio (Quaternium-5), cloreto de dodecildimetiletilbenzilamónio (Quaternium-14), Quaternium-22, Quaternium-26, Quaternium-18 hectorite, cloridrato de cloreto de dimetilaminoetilo, cloridrato de cisteína, fosfato de éter de dietanolamónio POE (10)oleílo, fosfato de éter de dietanolamónio POE (3)oleílo, cloreto de sebo-alcónio, dimetildioctadecilamóniobentonite, cloreto de estearalcónio, brometo de domifeno, benzoato de denatónio, cloreto de miristalcónio, cloreto de laurtrimónio, dicloridrato de etilenodiamina, cloridrato de guanidina, piridoxina HCl, cloridrato de iofetamina, cloridrato de meglumina, cloreto de metilbenzetónio, brometo de mirtrimónio, cloreto de oleiltrimónio, poliquaternium-1, cloridrato de procaína, cocobetaina, estearalcónio bentonite, estearalcónio hecтонite, difluoridrato de esteariltri-hidroxietilpropilenodiamina, cloreto de sebo-trimónio e brometo de hexadeciltrimetilamónio.

14. Composição de qualquer uma das reivindicações anteriores, em que o tamanho de partícula médio efectivo da composição de nanopartículas é seleccionado do grupo consistindo de inferior a 1900 nm, inferior a 1800 nm, inferior a 1700 nm, inferior a 1600 nm, inferior a 1500 nm, inferior a 1000 nm, inferior a 1400 nm, inferior a 1300 nm, inferior a 1200 nm, inferior a 1100 nm, inferior a 900 nm, inferior a 800 nm,

inferior a 700 nm, inferior a 600 nm, inferior a 500 nm, inferior a 400 nm, inferior a 300 nm, inferior a 250 nm, inferior a 200 nm, inferior a 150 nm, inferior a 100 nm, inferior a 75 nm e inferior a 50 nm.

15. Composição de qualquer uma das reivindicações anteriores, em que, pelo menos, 70%, pelo menos, 90% ou, pelo menos, 95% das partículas de agente activo têm um tamanho de partícula inferior ao tamanho de partícula médio efectivo.
16. Composição de qualquer uma das reivindicações anteriores, compreendendo ainda um ou mais excipientes ou portadores farmacêuticamente aceitáveis, ou uma sua combinação.
17. Composição de qualquer uma das reivindicações anteriores, em que a composição adsorve-se a uma superfície biológica seleccionada do grupo consistindo de dentes, osso, unhas, quitina, mucosa ou pele.
18. Composição de qualquer uma das reivindicações anteriores numa forma de pó seco.
19. Método de preparação de uma composição de nanopartículas compreendendo, pelo menos, um agente terapêutico ou de diagnóstico possuindo lisozima adsorvida na sua superfície numa quantidade suficiente para manter as partículas do agente terapêutico ou de diagnóstico num tamanho de partícula médio efectivo inferior a 2000 nm,

o referido método compreendendo contactar, pelo menos, um agente terapêutico ou de diagnóstico com lisozima, durante um período de tempo e em condições suficientes para

proporcionar uma composição de agente terapêutico ou de diagnóstico/lisozima possuindo um tamanho de partícula médio efectivo inferior a 2000 nm.

20. Método da reivindicação 19, em que o referido contacto compreende moagem.

21. Método da reivindicação 20, em que a referida moagem compreende moagem a húmido.

22. Método da reivindicação 19, em que o referido contacto compreende homogeneização.

23. Método da reivindicação 19, em que o referido contacto compreende:

(a) dissolver as partículas de agente terapêutico ou de diagnóstico num solvente;

(b) adicionar a solução de agente terapêutico ou de diagnóstico resultante a uma solução compreendendo lisozima; e

(c) precipitar a composição do agente terapêutico ou de diagnóstico/lisozima solubilizada pela adição de um não solvente.

24. Método de qualquer uma das reivindicações 19-23, em que o pelo menos um agente activo é seleccionado do grupo consistindo de proteínas, péptidos, nutracêuticos, carotenóides, agentes antiobesidade, corticosteróides, inibidores da elastase, analgésicos, antifúngicos, terapias oncológicas, antiemético, agentes cardiovasculares, agentes anti-inflamatórios, anti-helmínticos, agentes

antiarrítmicos, antibióticos, anticoagulantes, antidepressivos, agentes antidiabéticos, antiepilépticos, anti-histamínicos, agentes anti-hipertensivos, agentes antimuscarínicos, agentes antimicobacterianos, agentes antineoplásicos, imunossupressores, agentes antitiróide, agentes antivirais, sedativos ansiolíticos, adstringentes, agentes bloqueadores do receptor beta-adrenérgico, produtos e substitutos sanguíneos, agentes inotrópicos cardíacos, meios de contraste, supressores da tosse, agentes de diagnóstico, agentes de imagiologia de diagnóstico, diuréticos, dopaminérgicos, hemostáticos, agentes imunológicos, agentes reguladores de lípidos, relaxantes musculares, parassimpatomiméticos, calcitonina e bifosfonatos paratiróides, prostaglandinas, radiofármacos, hormonas sexuais, agentes antialérgicos, estimulantes e anorécticos, simpatomiméticos, agentes da tiróide, vasodilatadores, xantinas, medicação para a acne, formulações de alfa-hidroxi, terapias contra a fibrose quística, terapias contra a asma, terapias contra o enfisema, terapias contra a síndrome de insuficiência respiratória, terapias contra a bronquite crónica, terapias contra a doença pulmonar obstrutiva crónica, terapias contra a rejeição do transplante de órgãos, terapias contra a tuberculose e outras infecções do pulmão e terapias contra a doença respiratória associada à síndrome da imunodeficiência adquirida.

25. Método de qualquer uma das reivindicações 19-24, em que o pelo menos um agente activo está presente numa quantidade seleccionada do grupo consistindo de 99,5% a 0,001%, de 95% a 0,1% e de 90% a 0,5%, em peso com base no peso total

combinado do agente activo e estabilizador de superfície, não incluindo outros excipientes.

26. Método de qualquer uma das reivindicações 19-25, em que a lisozima está presente numa quantidade seleccionada do grupo consistindo de 0,5% a 99,999%, de 5,0% a 99,9% e de 10% a 99,5%, em peso, com base no peso seco total combinado do agente activo e lisozima, não incluindo outros excipientes.
27. Método de qualquer uma das reivindicações 19-26, em que o pelo menos um agente activo é seleccionado do grupo consistindo de uma fase cristalina, uma fase amorfa ou sua misturas.
28. Método de qualquer uma das reivindicações 19-27, compreendendo ainda, pelo menos, um estabilizador de superfície secundário, o qual não é a lisozima.
29. Método da reivindicação 27, em que o estabilizador de superfície secundário é seleccionado do grupo consistindo de um estabilizador de superfície aniónico, um estabilizador de superfície catiónico e um estabilizador de superfície iónico.
30. Método da reivindicação 29, em que o pelo menos um estabilizador de superfície secundário é seleccionado do grupo consistindo de cloreto de cetilpiridínio, gelatina, caseína, fosfatídeos, dextrano, glicerol, goma-arábica, colesterol, tragacanta, ácido esteárico, cloreto de benzalcónio, estearato de cálcio, monoestearato de glicerol, álcool cetoestearílico, cera emulsionante

cetomacrogol, ésteres de sorbitano, éteres de alquilo de polioxietileno, derivados de polioxietileno e óleo de rícino, ésteres de polioxietileno e sorbitano de ácido gordo, polietilenoglicóis, brometo de dodeciltrimetilamónio, estearatos de polioxietileno, dióxido de silício coloidal, fosfatos, dodecilsulfato de sódio, carboximetilcelulose de cálcio, hidroxipropilceluloses, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose de sódio, metilcelulose, hidroxietilcelulose, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose, celulose não cristalina, aluminossilicato de magnésio, trietanolamina, poli(álcool vinílico), polivinilpirrolidona, polímero de 4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenol com óxido de etileno e formaldeído, poloxâmeros; poloxaminas, um fosfolípido carregado, dioctilsulfossuccinato, ésteres dialquílicos de ácido sulfossuccínico de sódio, laurilsulfato de sódio, poliéter sulfonatos alquílicos e arílicos, misturas de estearato de sacarose e diestearato de sacarose, p-isononilfenoxipoli(glicidol), decanoil-N-metilglucamida; n-decil- β -D-glucopirranose; n-decil- β -D-maltopirranose; n-dodecil- β -D-glucopirranose; n-dodecil- β -D-maltósico; heptanoil-N-metilglucamida; n-heptil- β -D-glucopirranose; n-heptil- β -D-tioglucoose; n-hexil- β -D-glucopirranose; nonanoil-N-metilglucamida; n-noil- β -D-glucopirranose; octanoil-N-metilglucamida; n-octil- β -D-glucopirranose; octil- β -D-tioglucoopirranose; e copolímeros aleatórios de acetato de vinilo e vinilpirrolidona.

31. Método da reivindicação 29, em que o pelo menos um estabilizador de superfície catiónico é seleccionado do grupo consistindo de um polímero, um biopolímero, um

polissacárido, um produto celulósico, um alginato, um composto não polimérico, um fosfolípido, estabilizadores zwitteriônicos, poli-n-metilpiridínio, cloreto de antrilpiridínio, quitosano, polilisina, polivinilimidazole, polibreno, brometo de polimetilmetacrilato trimetilamónio (PMMTMABr), brometo de hexildesiltrimetilamónio (HDMAB), dimetilsulfato de polivinilpirrolidona-2-dimetilaminoetilmetacrilato, 1,2-Dipalmitoil-sn-Glicero-3-Fosfoetanolamina-N-[Amino(PolietilenoGlicol)2000] (sal de sódio), Poli(brometo de 2-metacriloxietiltrimetilamónio), poloxaminas, ácido algínico, carragenina e POLYOX.

32. Método da reivindicação 29 ou 31, em que o pelo menos um estabilizador de superfície catiónico é seleccionado do grupo consistindo de lípidos catiónicos, compostos de sulfónio, fosfónio e amónio quaternário, cloreto de esteariltrimetilamónio, brometo de benzil-di(2-cloroetil)etilamónio, cloreto de trimetilamónio de coco, brometo de trimetilamónio de coco, cloreto de metildi-hidroxietilamónio de coco, brometo de metildi-hidroxietilamónio de coco, cloreto de deciltriethylamónio, cloreto de decildimetil-hidroxietilamónio, brometo de decildimetil-hidroxietilamónio, cloreto de dimetil C₁₂₋₁₅-hidroxietilamónio, brometo de dimetil C₁₂₋₁₅-hidroxietilamónio, cloreto de coco-dimetil-hidroxietilamónio, brometo de coco-dimetil-hidroxietilamónio, metilsulfato de miristiltrimetilamónio, cloreto de laurildimetilbenzilamónio, brometo de laurildimetilbenzilamónio, cloreto de laurildimetil(etenoxy)₄amónio, brometo de laurildimetil(etenoxy)₄amónio, cloreto de N-alkuil (C₁₂₋₁₈)dimetilbenzilamónio, cloreto de N-alkuil (C₁₄₋

₁₈) dimetil-benzilamónio, mono-hidrato de cloreto de N-tetradecildimetilbenzilamónio, cloreto de dimetildidecilamónio, cloreto de N-alkuil e (C₁₂₋₁₄) dimetil-1-naftilmetilamónio, halogeneto de trimetilamónio, sais de alkuil-trimetilamónio, sais de dialquil-dimetilamónio, cloreto de lauriltrimetilamónio, sal de alkuilamidoalkuildialquilamónio etoxilado, um sal de trialquilamónio etoxilado, cloreto de dialquilbenzenodialquilamónio, cloreto de N-didecildimetilamónio, cloreto de N-alkuil(C₁₂₋₁₄) dimetil-1-naftilmetilamónio, cloreto de dodecildimetilbenzilamónio, cloreto de dialquil-benzenoalkuilamónio, cloreto de lauriltrimetilamónio, cloreto de alkuilbenzilmetilamónio, brometo de alkuilbenzildimetilamónio, brometos de C₁₂, C₁₅, C₁₇ trimetilamónio, cloreto de dodecilbenziltriethylamónio, cloreto de poli-dialildimetilamónio (DADMAC), cloretos de dimetilamónio, halogenetos de alkuidimetilamónio, cloreto de tricetilmetilamónio, brometo de deciltrimetilamónio, brometo de dodeciltriethylamónio, tetrabrometo de deciltrimetilamónio, cloreto de metiltriethylamónio, POLIQUAT 10™, brometo de tetrabutylamónio, brometo de benziltrimetilamónio, ésteres de colina, cloreto de benzalcónio, compostos de cloreto de estearilalcónio, brometo de cetilpiridínio, cloreto de cetilpiridínio, sais de halogeneto de polioxiethylalkuilaminas quaternizadas, MIRAPOL™, ALKAQUAT™, sais de alkuilpiridínio, aminas, acrilamidas quaternárias protonadas, polímeros quaternários metilados e goma de guar catiónica.

33. Método da reivindicação 32, em que a amina é seleccionada do grupo consistindo de alkuilaminas, dialquilaminas, alcanolaminas, polietilenopoliaminas, acrilatos de

N,N-dialquilaminoalquilo, vinilpiridina, sais de amina, acetato de laurilamina, acetato de estearilamina, sal de alquilpiridínio, sal de alquilimidazólio, óxidos de amina e sais de imidazolínio.

34. Método da reivindicação 31, em que o estabilizador de superfície catiónico é um composto não polimérico seleccionado do grupo consistindo de cloreto de benzalcónio, um composto de carbónio, um composto de fosfónio, um composto de oxónio, um composto de halónio, um composto organometálico catiónico, um composto de fósforo quaternário, um composto de piridínio, um composto de anilínio, um composto de amónio, um composto de hidroxilamónio, um composto de amónio primário, um composto de amónio secundário, um composto de amónio terciário, cloreto de beencalcónio, cloreto de benzetónio, cloreto de cetilpiridínio, cloreto de beentrimónio, cloreto de lauralcónio, cloreto de cetalcónio, brometo de cetrímónio, cloreto de cetrímónio, fluoridrato de cetilamina, cloreto de cloralilmetenamina (Quaternium-15), cloreto de diestearildimónio (Quaternium-5), cloreto de dodecildimetiletilbenzilamónio (Quaternium-14), Quaternium-22, Quaternium-26, Quaternium-18 hectorite, cloridrato de cloreto de dimetilaminoetilo, cloridrato de cisteína, fosfato de éter de dietanolamónio POE (10)oleílo, fosfato de éter de dietanolamónio POE (3)oleílo, cloreto de sebo-alcónio, dimetil dioctadecilamóniobentonite, cloreto de estearalcónio, brometo de domifeno, benzoato de denatónio, cloreto de miristalcónio, cloreto de laurtrimónio, dicloridrato de etilenodiamina, cloridrato de guanidina, piridoxina HCl, cloridrato de iofetamina, cloridrato de

meglumina, cloreto de metilbenzetónio, brometo de mirtrimónio, cloreto de oleiltrimónio, poliquaternium-1, cloridrato de procaína, cocobetaina, estearalcónio bentonite, estearalcónio hectonite, difluoridrato de esteariltri-hidroxietilpropilenodiamina, cloreto de sebotrimónio e brometo de hexadeciltrimetilamónio.

35. Método de qualquer uma das reivindicações 19-34, em que o tamanho de partícula médio efectivo da composição de nanopartículas é seleccionado do grupo consistindo de inferior a 1900 nm, inferior a 1800 nm, inferior a 1700 nm, inferior a 1600 nm, inferior a 1500 nm, inferior a 1400 nm, inferior a 1300 nm, inferior a 1200 nm, inferior a 1100 nm, inferior a 1000 nm, inferior a 900 nm, inferior a 800 nm, inferior a 700 nm, inferior a 600 nm, inferior a 500 nm, inferior a 400 nm, inferior a 300 nm, inferior a 250 nm, inferior a 200 nm, inferior a 150 nm, inferior a 100 nm, inferior a 75 nm e inferior a 50 nm.
36. Método de qualquer uma das reivindicações 19-35, em que pelo menos, 70%, pelo menos, 90% ou, pelo menos, 95% das partículas de agente activo têm um tamanho de partícula inferior ao tamanho de partícula médio efectivo.
37. Utilização de uma composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-18 para a preparação de um medicamento.

Lisboa, 8 de Julho de 2010

RESUMO

"COMPOSIÇÕES DE NANOPARTÍCULAS COM LISOZIMA COMO UM ESTABILIZADOR SUPERFICIAL"

A presente invenção refere-se um agente activo na forma de composições de nanopartículas, compreendendo lisozima como um estabilizador de superfície. Também são abrangidas pela invenção composições farmacêuticas compreendendo uma composição de agente activo na forma de nanopartículas da invenção e métodos de preparação e utilização de tais nanopartículas e composições farmacêuticas.