



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

(21) PI 0719756-0 A2



* B R P I 0 7 1 9 7 5 6 A 2 *

(22) Data de Depósito: 30/11/2007

(43) Data da Publicação: 21/01/2014
(RPI 2246)

(51) Int.Cl.:

A61K 9/107
A61K 38/48
A61K 47/34
A61K 47/36
A61Q 19/08
A61K 8/06
A61K 8/14
A61K 8/73
A61K 8/85

(54) Título: NANOPARTÍCULAS DE ENTIDADES ANFÍLICAS

(57) Resumo:

(30) Prioridade Unionista: 01/12/2006 US 60/872,198

(73) Titular(es): Anterios, INC.

(72) Inventor(es): Timothy Kotyla

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2007086018 de 30/11/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/070538de 12/06/2008

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "NANOPARTÍCULAS DE ENTIDADES ANFÍFÍLICAS".

Pedidos de Patente Relacionados

Este pedido de patente reivindica prioridade segundo o artigo 35
5 U. S. C. § 119(e) para o pedido de patente provisório US, U.S.S.N. 60/872,198, depositado em 1 de dezembro de 2006 ("o pedido '198"). O conteúdo total do pedido '198 está aqui incorporado em sua integridade a título de referência.

Antecedentes da Invenção

10 Existe uma literatura significativa sobre estratégias para a produção de nanopartículas de polímeros. Por exemplo, quando um polímero anfifílico está presente em um solvente a uma concentração acima de sua concentração micelar crítica, ele se transformará automaticamente em estruturas nanoparticuladas. Mesmo quando tal polímero está presente a uma
15 concentração mais baixa, ele pode ser forçado a formar nanopartículas diminuindo-se a solvatação do solvente tal como por diluição do solvente com água. Os solventes que eram tradicionalmente usados para a fabricação de nanopartículas geralmente eram um ou mais sulfóxido de dimetila (DMSO), dimetil acetimida, dimetil formamida, clorofórmio, tetrametil formamida. Infelizmente, cada um deles é altamente tóxico e oneroso.
20

Além do fato de requererem um ou mais solventes tóxicos, os métodos tradicionais para gerar nanopartículas de polímeros tendem a ser lentos (requerendo até vários dias para terminar a formação de nanopartículas), e fornecem apenas baixos rendimentos de nanopartículas. Portanto, o
25 custo dos componentes, a velocidade e o rendimento da reação química, a toxicidade dos componentes residuais, e o gasto total dos processos disponíveis para a produção de nanopartículas pode ter um profundo impacto negativo sobre a viabilidade comercial do uso de tais nanopartículas.

Nanopartículas são frequentemente propostas para uso como
30 mecanismo de distribuição para um agente biologicamente ativo, tal como um fármaco. Frequentemente, constitui um desafio incorporar (ou "carregar") o agente biologicamente ativo na nanopartícula porque a quantidade

que pode ser incorporada é limitada ou leva muito tempo para incorporar o material (por exemplo, através de difusão). Este desafio pode limitar a utilidade prática ou comercial da nanopartícula como mecanismo de distribuição para um agente biologicamente ativo.

Portanto, existe uma necessidade de desenvolvimento de métodos eficientes e econômicos para a produção de nanopartículas. Existe ainda a necessidade de desenvolvimento de métodos para a produção de nanopartículas que não utilizem ou deixem componentes residuais ou subprodutos da reação que sejam tóxicos.

10 Sumário da Invenção

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de entidades anfifílicas (AE). Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas são uniformes. Por exemplo, em algumas modalidades, a distribuição de partículas totais está compreendida em uma faixa particular de tamanhos de diâmetro de partícula (discutida em maiores detalhes abaixo); em algumas modalidades, uma parte da distribuição de partículas totais está fora da faixa particular.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece nanopartículas de AE e composições farmacêuticas compreendendo nanopartículas de AE. Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE compreendem uma ou mais entidades anfifílicas. As nanopartículas de AE podem compreender um ou mais meios de dispersão, tensoativos, agentes biologicamente ativos, e/ou componentes retardadores da liberação. Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE têm menos de 1000 nanômetros, 500 nanômetros, 200 nanômetros, ou 100 nanômetros de diâmetro.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece sistemas, incluindo métodos, reagentes, e/ou composições, para a produção de nanopartículas de AE. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas de AE podem ser geradas por exposição a forças de alto cisalhamento; em algumas modalidades, as composições de nanopartículas de AE podem ser geradas por homogeneização à alta pressão; em algumas moda-

lidades, as composições de nanopartículas de AE podem ser geradas por cavitação; em algumas modalidades, as composições de nanopartículas de AE podem ser geradas por microfluidificação. Em algumas modalidades, um equipamento comercialmente disponível, tal como o Microfluizider®, pode ser
5 usado para gerar forças de alto cisalhamento.

Em algumas modalidades, os métodos para a produção de nanopartículas de AE geralmente compreendem as etapas de preparar uma pré-mistura de uma ou mais entidades anfifílicas e aplicar uma força de alto cisalhamento à pré-mistura. A pré-mistura geralmente contém uma ou mais
10 entidades anfifílicas e um ou mais meios de dispersão. A pré-mistura pode opcionalmente compreender um ou mais tensoativos, agentes biologicamente ativos, e/ou agentes retardadores da liberação. Em algumas modalidades, as entidades anfifílicas da pré-mistura se unem criando partículas (por exemplo nanopartículas, micropartículas, e/ou micelas) antes da aplicação da
15 força de alto cisalhamento. Em algumas modalidades, as entidades anfifílicas da pré-mistura não se unem criando partículas antes da aplicação da força de alto cisalhamento.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece aperfeiçoamentos sobre os métodos tradicionais de produção de nanopartículas.
20 Por exemplo, o uso de energia mecânica substitui ou minimiza a necessidade de usar solventes químicos tóxicos e onerosos, aumenta a velocidade e o rendimento da reação, reduz o custo total da reação de síntese, dessa forma aumentando a utilidade comercial das nanopartículas de AE. Adicionalmente, o uso de força de cisalhamento alto permite maior capacidade de carga
25 da nanopartícula em relação aos métodos tradicionais de formação de nanopartículas. Nos métodos tradicionais, a carga de agentes no interior ou sobre a superfície das nanopartículas depende da difusão do agente para o interior e/ou o para a superfície da nanopartícula.

A presente invenção abrange o reconhecimento de que submeter partículas (por exemplo nanopartículas, micropartículas, e/ou micelas) a uma força de alto cisalhamento é um método de produção de nanopartículas econômico e eficiente e não utiliza componentes residuais tóxicos. Em al-

gumas modalidades, as nanopartículas de AE são completamente livres ou substancialmente livres de componentes tóxicos. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE são completamente livres ou substancialmente livres de componentes tóxicos. A presente invenção abrange ainda o reconhecimento de que submeter partículas (por exemplo nanopartículas, micropartículas, e/ou micelas) a uma força de alto cisalhamento gera nanopartículas com uma capacidade de carga maior em relação aos métodos tradicionais de fazer nanopartículas.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece um meio todo de distribuição de uma composição, substância, ou agente biologicamente ativo para um indivíduo. Em algumas modalidades, a composição, substância, ou agente biologicamente ativo pode ser distribuído por qualquer via. Em algumas modalidades, a composição, substância, ou agente biologicamente ativo é distribuído por via transdérmica (ou por via tópica).

Em algumas modalidades, a invenção oferece métodos e composições para a distribuição transdérmica de um agente biologicamente ativo para um indivíduo através da administração ao indivíduo de composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a superfície da pele do indivíduo, onde o agente biologicamente ativo é encapsulado na superfície e/ou ligado à superfície das nanopartículas de AE. A presente invenção abrange a descoberta de que as nanopartículas de AE da presente invenção podem efetuar a distribuição transdérmica de um agente biologicamente ativo sem mudar ou alterar a estrutura da pele. Por exemplo, agentes abrasivos ou agentes que causam a erosão da camada superior da pele (seja químicos, mecânicos, elétricos, magnéticos etc.) não são necessários para efetuar a distribuição transdérmica de um agente biologicamente ativo. Em algumas modalidades, uma composição para a distribuição transdérmica de um agente biologicamente ativo pode estar na forma de um emplastro transdérmico. Em algumas modalidades, as composições da invenção compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica de um agente biologicamente ativo podem ser usadas em um dispositivo de aplicação que permite a aplicação da composição em um local alvo na pele sem

aplicar a composição a áreas da pele fora do alvo.

Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo compreende um polímero biológico. Em algumas modalidades, o polímero é DNA, RNA, ou uma proteína. Em algumas modalidades, a proteína compreende várias proteínas e/ou complexos proteicos. Em certas modalidades, o agente biologicamente ativo distribuído de acordo com a presente invenção é um ou mais peptídios da toxina botulínica, polipeptídios e/ou complexos proteicos. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser um ou mais dos sorotipos A, B, C₁, C₂, D, E, F, ou G da toxina botulínica. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser uma toxina botulínica isolada e/ou purificada. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser uma toxina botulínica parcialmente isolada e/ou parcialmente purificada. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser um complexo botulínico nativo. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode estar associada a proteínas não-toxínicas. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser uma toxina botulínica feita de forma recombinante.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece métodos para tratamento de rugas faciais (por exemplo rugas envolvendo a região da testa, região glabellar, região da face, e/ou região periorbital); linhas faciais hipercinéticas; feixes de plastima; distúrbios e condições neuromusculares envolvendo espasmo e/ou contratura musculares (por exemplo paralisia facial, blefaroespasmo, paralisia cerebral, estrabismo e/ou distonia); hiperplasia da próstata; hiper-hidrose; dor de cabeça, e/ou doenças e distúrbios da articulação temporomandibular (TMJ, também conhecida como "maxila travada"). Tais métodos geralmente envolvem administrar a um indivíduo composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica da toxina botulínica ou do complexo de toxina botulínica.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece métodos para tratamento de rugas faciais (por exemplo rugas envolvendo a região da testa, região glabellar, região da face, e/ou região periorbital), linhas faciais hipercinéticas, e/ou feixes de plastima. Em algumas modalidades, as com-

posições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica do agente biologicamente ativo podem ser usadas para tratar rugas faciais. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição 5 transdérmica da toxina botulínica ou de complexo de toxina botulínica podem ser usadas para tratar rugas faciais. Em algumas modalidades, rugas faciais podem incluir rugas glabulares, linhas faciais (por exemplo linhas faciais hipercinéticas), linhas do cenho da testa, rugas da face média, rugas da boca, linhas e enfeixamento do pescoço (por exemplo feixes de plastima), e pre- 10 gas no queixo. Tais métodos geralmente envolvem administrar a um indivíduo composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica da toxina botulínica ou de complexo de toxina botulínica.

Em algumas modalidades, a presente invenção não oferece métodos para o tratamento de hiperplasia da próstata. Em algumas modalidades, a presente invenção não oferece métodos para o tratamento de distúrbios e condições neuromusculares que envolvem espasmo muscular e/ou contratura. Em algumas modalidades, a presente invenção não oferece métodos para o tratamento de hiper-hidrose. Em algumas modalidades, a presente invenção não oferece métodos para o tratamento de dor de cabeça. Em algumas modalidades, a presente invenção não oferece métodos para o tratamento de TMJ.

Este pedido de patente refere-se a várias publicações de patente, todas estando aqui incorporadas a título de referência.

25 Definições

Abrasão: o termo "abrasão", conforme usado neste relatório refere-se a qualquer meio de alteração, rompimento, remoção, ou destruição da camada superior da pele. Em algumas modalidades, abrasão refere-se a um meio mecânico de alteração, rompimento, remoção, ou destruição da 30 camada superior da pele. Em algumas modalidades, abrasão refere-se a um meio químico de alteração, rompimento, remoção, ou destruição da camada superior da pele. Para dar apenas alguns exemplos, agentes tais como esfo-

liastes, partículas finas (por exemplo partículas de magnésio ou alumínio), ácidos (por exemplo alfa-hidróxi ácidos ou beta-hidróxi ácidos), álcoois, podem causar abrasão. Em geral, espera-se que aumentadores de permeação, tais como aqueles descritos, por exemplo, por Donovan (por exemplo 5 Publicações de Patente US 2004/009180 e 2005/175636 e Publicação PCT WO 04/06954; todas estando aqui incorporadas a título de referência), e Graham (por exemplo Patente US 6.939.852 e Publicação de Patente US 2006/093624; ambas estando aqui incorporadas a título de referência), etc., causem abrasão. Naturalmente, os versados na técnica vão perceber que 10 um agente particular pode causar abrasão quando presente a uma concentração, ou em associação a um ou mais outros agentes, mas podem não causar abrasão em circunstâncias diferentes. Portanto, o fato de um material em particular ser ou não um "agente abrasivo" depende do contexto. A abrasão pode ser facilmente avaliada pelos versados na técnica, por exemplo 15 através da observação de vermelhidão ou irritação da pele e/ou através de exame histológico da pele apresentando alteração, rompimento, remoção, ou erosão do estrato córneo.

Aminoácido: conforme usado neste relatório, o termo "aminoácido", em seu sentido mais amplo, refere-se a qualquer composto e/ou substância que pode ser incorporada em uma cadeia polipeptídica. Em algumas modalidades, um aminoácido tem a estrutura geral $H_2N-C(H)(R)-COOH$. Em algumas modalidades, um aminoácido é um aminoácido natural. Em algumas modalidades, um aminoácido é um aminoácido sintético; em algumas modalidades, um aminoácido é um D-aminoácido; em algumas modalidades, 20 um aminoácido é um L-aminoácido. "Aminoácido padrão" refere-se a qualquer um dos vinte L-aminoácidos normais comumente encontrados em peptídos naturais. "Aminoácido não-padrão" refere-se a qualquer aminoácido, que não os aminoácidos normais, independente de ser preparado sinteticamente ou obtido de uma fonte natural. Conforme usado neste relatório, "aminoácido sintético" abrange aminoácidos quimicamente modificados, incluindo, porém sem limitação, sais, derivados de aminoácidos (tais como amidas), e/ou substituições. Os aminoácidos, inclusive os aminoácidos carbóxi-

terminais e/ou aminoterminais nos peptídios, podem ser modificados por metilação, amidação, acetilação, e/ou substituição com outros grupos químicos que podem alterar a meia-vida de circulação do peptídio sem afetar adversamente sua atividade. Os aminoácidos podem participar de uma ligação dissulfeto. O termo "aminoácido" é usado alternadamente com "resíduo de aminoácido", e pode referir-se a um aminoácido livre e/ou a um resíduo de aminoácido de um peptídio. Ficará evidente pelo contexto no qual o termo é usado se ele se refere a um aminoácido livre ou a um resíduo de um peptídio.

Entidade anfifílica: conforme usado neste relatório, o termo "entidade anfifílica" refere-se a uma entidade química que possui natureza tanto hidrofílica quanto hidrofóbica. Conforme usado neste relatório, os termos "anfifílico" e "anfipático" podem ser usados alternadamente. Em algumas modalidades, as entidades anfifílicas de uma AE nanopartícula são biocompatíveis. As entidades anfifílicas biocompatíveis não são significativamente tóxicas para células. Em algumas modalidades, as entidades anfifílicas de uma AE nanopartícula são biodegradáveis. As entidades anfifílicas biodegradáveis são compostas pela máquina celular e/ou por hidrólise em componentes que as células podem ou reutilizar ou descartar sem efeito tóxico significativo. Em algumas modalidades, uma entidade anfifílica biodegradável e seus subprodutos de biodegradação são biocompatíveis. Em algumas modalidades, a entidade anfifílica é não-imunogênica. Em algumas modalidades, uma entidade anfifílica pode compreender um ou mais compostos ou moléculas individuais que são anfifílicas. Em algumas modalidades, uma entidade anfifílica pode compreender um ou mais componentes individuais que não são anfifílicos mas que têm algum caráter hidrofílico ou hidrofóbico. Tipicamente, os componentes individuais são associados uns aos outros de forma que a reunião dos componentes individuais é anfifílica.

Animal: conforme usado neste relatório, o termo "animal" refere-se qualquer membro do reino animal. Em algumas modalidades, "animal" refere-se a seres humanos, em qualquer estágio de desenvolvimento. Em algumas modalidades, "animal" refere-se a animais não-humanos, em qual-

quer estágio de desenvolvimento. Em certas modalidades, o animal não-humano é um mamífero (por exemplo, um roedor, um camundongo, um rato, um coelho, um macaco, um cachorro, um gato, um carneiro, gado, um primata, e/ou um porco). Em algumas modalidades, animais incluem, porém sem limitação, mamíferos, pássaros, répteis, anfíbios, peixes, e/ou lagartas. Em algumas modalidades, um animal pode ser um animal transgênico, um animal construído geneticamente, e/ou um clone.

Anticorpo: conforme usado neste relatório, o termo "anticorpo" refere-se a uma imunoglobulina, seja produzida naturalmente, produzida sinteticamente, ou ambos. O anticorpo pode ser um membro de qualquer classe de imunoglobulinas, inclusive qualquer uma das classes humanas: IgG, IgM, IgA, IgD, e/ou IgE. O anticorpo pode ser um fragmento de um anticorpo tal como um Fab'; F(ab')₂; scFv (variável de cadeia simples) e/ou qualquer outro fragmento que retenha um sítio de ligação a antígeno; e/ou um fragmento scFv produzido recombinantemente, incluindo fragmentos produzidos recombinantemente (vide, por exemplo, Allen, 2002, Nat Rev Cancer, 2:750 e referências ali citadas; aqui incorporadas a título de referência). Em certas modalidades da invenção o termo refere-se a anticorpos "humanizados", que incluem sequências de origem humana. Em algumas modalidades, anticorpos "humanizados" são caracterizados por um domínio variável de origem de espécie roedora fundido a um domínio constante de origem humana, dessa forma retendo a especificidade do anticorpo do roedor. Observa-se que o domínio de origem humana não precisa originar diretamente de um ser humano no sentido de ser primeiro sintetizado em um ser humano. Por exemplo, domínios "humanos" podem ser gerados em roedores cujo genoma incorpora genes de imunoglobulina humana (vide, por exemplo, Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1988; aqui incorporado a título de referência). Um anticorpo pode ser policlonal ou monoclonal.

Aproximadamente: conforme usado neste relatório, o termo "aproximadamente" ou "cerca de", aplicado a um ou mais valores de interesse, refere-se a um valor que é similar a um valor de referência estipulado. Em

- certas modalidades, o termo "aproximadamente" ou "cerca de" refere-se a uma faixa de valores que está dentro de 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, ou menos em qualquer direção (maior ou menor que) do valor de referência
- 5 estipulado a menos que de forma indicado ou de alguma forma evidente pelo contexto (exceto onde tal número ultrapassaria 100% de um valor possível).

Agente biologicamente ativo: conforme usado neste relatório, a expressão "agente biologicamente ativo" refere-se a qualquer substância que tem atividade em um sistema biológico e/ou em um organismo. Por exemplo, uma substância que, quando administrada a um organismo, tem um efeito biológico naquele organismo, é considerada biologicamente ativa. Em modalidades particulares, onde uma proteína ou polipeptídio é biologicamente ativa, uma porção daquela proteína ou polipeptídio que compartilha pelo menos uma atividade biológica da proteína ou polipeptídio é tipicamente chamada de porção "biologicamente ativa".

Porção característica: conforme usado neste relatório, a expressão uma "porção característica" de uma substância, no sentido mais amplo, é uma porção que compartilha algum grau de sequência e/ou identidade estrutural e/ou pelo menos uma característica funcional com a substância intata relevante. Por exemplo, uma "porção característica" de uma proteína ou polipeptídio é uma porção que contém uma extensão contínua de aminoácido, ou um conjunto de extensões contínuas de aminoácidos, que juntas constituem característica de uma proteína ou polipeptídio. Em algumas modalidades, cada extensão contínua desse tipo geralmente vai conter pelo menos 2, 5, 10, 15, 20 ou mais aminoácidos. Em geral, uma porção característica é uma porção que, além da identidade de sequência especificada acima, compartilha pelo menos uma característica funcional com a proteína intata relevante. Em algumas modalidades, a porção característica pode ser biologicamente ativa.

Meio de dispersão: o termo "meio de dispersão", conforme usado neste relatório, refere-se a um meio líquido no qual partículas (por exemplo, nanopartículas de AE) são dispersadas. Em geral, uma dispersão é

- formada quando pelo menos dois materiais imiscíveis são combinados. Uma dispersão de "óleo-em-água" é aquela na qual partículas oleosas são dispersadas em um meio de dispersão aquoso. Uma dispersão de "água em óleo" é aquela na qual partículas aquosas são dispersadas em um meio de dispersão oleoso. Os versados na técnica vão perceber que é possível formar uma dispersão a partir de quaisquer dois meios imiscíveis e não está estritamente limitada a combinações de meios aquosos e oleosos. O termo "meio de dispersão" portanto aplica-se amplamente a qualquer meio de dispersão embora seja comum mencionar as categorias "aquosa" e "oleosa".
- 10 Encapsulado: o termo "encapsulado" (também "encapsular" ou "encapsulando") é usado neste relatório para indicar que a entidade encapsulada está completamente envolvida por um outro material. Para dar apenas um exemplo, um agente biologicamente ativo pode ser encapsulado em uma nanopartícula em uma composição da invenção, tal encapsulação pode ser obtida, por exemplo, durante a formação de uma composição de nanopartículas, por exemplo durante exposição à força de alto cisalhamento.

Expressão: conforme usado neste relatório, "expressão" de uma sequência de ácidos nucleicos refere-se a um ou mais dos seguintes eventos: (1) produção de um gabarito de RNA a partir de uma sequência de DNA (por exemplo, por transcrição); (2) processamento de um transcrito de RNA (por exemplo, por exemplo emenda, edição, formação de capuz em 5', e/ou formação de extremidade em 3'); (3) translação de um RNA em um polipeptídio ou em uma proteína; (4) modificação pós-translacional de um polipeptídio ou de uma proteína.

25 Gene: conforme usado neste relatório, o termo "gene" tem seu significado conhecido na literatura. Será observado pelos versados na técnica que o termo "gene" pode incluir sequências reguladoras de genes (por exemplo, promotores, reforçadores etc.) e/ou sequências de intron. Será ainda observado que as definições de gene incluem referências a ácidos nucleicos que não codificam proteínas mas em vez disso codificam moléculas de RNA funcionais tais como tRNAs. Para fins de clareza observamos que, conforme usado no presente pedido de patente o termo "gene" geral-

- * mente refere-se a uma porção de um ácido nucleico que codifica uma proteína; o termo pode opcionalmente abranger sequências reguladoras, como ficará claro pelo contexto para os versados na técnica. Esta definição não pretende excluir a aplicação do termo "gene" para unidades de expressão 5 não-codificadoras de proteínas mas sim esclarecer que, na maioria dos casos, o termo usado neste documento refere-se a um ácido nucleico codificador de proteína.

Produto gênico ou produto de expressão: conforme usado neste relatório, o termo "produto gênico" ou "produto de expressão" geralmente 10 refere-se a um RNA transscrito a partir do gene (pré- e/ou pós-processamento) ou de um polipeptídio (pré- e/ou pós-modificação) codificado por um RNA transscrito a partir do gene.

Homologia: conforme usado neste relatório, os termos "homologia" e "identidade" são usados alternadamente e referem-se à relação entre 15 moléculas poliméricas, por exemplo entre moléculas de ácidos nucleicos (por exemplo moléculas de DNA e/ou moléculas de RNA) e/ou entre moléculas de polipeptídios. O cálculo do percentual de homologia ou identidade de duas sequências de ácidos nucleicos pode ser feito através do alinhamento das duas sequências com fins de comparação otimizada (por exemplo, hiatos podem ser introduzidos em uma ou ambas de uma primeira e uma segunda sequências de ácidos nucleicos para alinhamento atimizado e as sequências não-homólogas podem ser desconsideradas para fins de comparação). Em certas modalidades, o comprimento de uma sequência alinhada 20 para fins de comparação é pelo menos 30%, pelo menos 40%, pelo menos 50%, pelo menos 60%, pelo menos 70%, pelo menos 80%, pelo menos 90%, pelo menos 95% ou 100% do comprimento da sequência de referência. Os nucleotídeos em posições de nucleotídeo correspondentes são então comparados. Quando uma posição na primeira sequência é ocupada 25 pelo mesmo nucleotídeo que na posição correspondente na segunda sequência, então as moléculas são idênticas (ou homólogas) naquela posição. O percentual de identidade entre as duas sequências é uma função do número 30 de posições idênticas compartilhadas pelas sequências, considerando-

se o número de hiatos, e o comprimento de cada hiato, que é preciso introduzir para alinhamento otimizado das duas sequências. A comparação das sequências e a determinação do percentual de identidade entre duas sequências pode ser feita através do uso de um algoritmo matemático. Por exemplo, o percentual de identidade entre duas sequências de nucleotídeo pode ser determinado através do uso do algoritmo de Meyers e Miller (CA-BIOS, 1989, 4: 11-17; aqui incorporado a título de referência), que foi incorporado ao programa ALIGN (versão 2.0) usando uma tabela de resíduo de peso PAM120, uma penalidade de comprimento de intervalo de 12 e uma penalidade de intervalo de 4. O percentual de identidade entre duas sequências de nucleotídeo pode, alternativamente, ser determinado através do uso do programa GAP no software GCG usando uma matriz NWGapd-na.CMP.

Hidrofílico: conforme usado neste relatório, uma substância "hidrofílica" é uma substância que pode ser solúvel em meios de dispersão polares. Em algumas modalidades, uma substância hidrofílica pode se ligar transitoriamente a meios de dispersão polares. Em algumas modalidades, uma substância hidrofílica liga-se transitoriamente a meios de dispersão polares através da ligação hidrogênio. Em algumas modalidades, o meio de dispersão polar é água. Em algumas modalidades, uma substância hidrofílica pode ser iônica. Em algumas modalidades, uma substância hidrofílica pode ser não-iônica. Em algumas modalidades, uma substância hidrofílica pode dissolver mais facilmente em água, meios de dispersão polares, ou meios de dispersão hidrofílicos do que em óleo, meios de dispersão não-polares, ou meios de dispersão hidrofóbicos. Em algumas modalidades, uma substância hidrofílica pode dissolver menos rapidamente em óleo, meios de dispersão não-polares, ou meios de dispersão hidrofóbicos que em água, meios de dispersão polares, ou meios de dispersão hidrofílicos. Em algumas modalidades, uma substância é hidrofílica em relação a uma outra substância porque ela é mais solúvel em água, meios de dispersão polares, ou meios de dispersão hidrofílicos que a outra substância. Em algumas modalidades, uma substância é hidrofílica em relação a uma outra substância porque

ela é menos solúvel em óleo, meios de dispersão não-polares, ou meios de dispersão hidrofóbicos que a outra substância.

Hidrofóbico: conforme usado neste relatório, uma substância "hidrofóbica" é uma substância que pode ser solúvel em meios de dispersão não-polares. Em algumas modalidades, uma substância hidrofóbica é repelida por meios de dispersão polares. Em algumas modalidades, o meio de dispersão polar é água. Em algumas modalidades, as substâncias hidrofóbicas são não-polares. Em algumas modalidades, uma substância hidrofóbica pode dissolver mais facilmente em óleo, meios de dispersão não-polares, ou meios de dispersão hidrofóbicos que em água, meios de dispersão polares, ou meios de dispersão hidrofílicos. Em algumas modalidades, uma substância hidrofóbica pode dissolver menos facilmente em água, meios de dispersão polares, ou meios de dispersão hidrofílicos que em óleo, meios de dispersão não-polares, ou meios de dispersão hidrofóbicos. Em algumas modalidades, uma substância é hidrofóbica em relação a uma outra substância porque ela é mais solúvel em óleo, meios de dispersão não-polares, ou meios de dispersão hidrofóbicos que a outra substância. Em algumas modalidades, uma substância é hidrofóbica em relação a uma outra substância porque ela é menos solúvel em água, meios de dispersão polares, ou meios de dispersão hidrofílicos que a outra substância.

Em conjunto com: conforme usado neste relatório, a expressão "distribuído em conjunto com" refere-se à codistribuição de duas ou mais substâncias ou agentes. Em particular, de acordo com a presente invenção, a expressão é usada neste relatório com respeito à distribuição de um agente biologicamente ativo com nanopartículas de AE e/ou composições de nanopartículas da invenção. Uma substância ou agente é distribuído em conjunto com nanopartículas de AE quando a substância ou o agente é combinado com nanopartículas de AE e/ou com composições de nanopartículas; é encapsulado ou completamente envolvido por nanopartículas de AE; é implantado em uma membrana micelar de nanopartículas de AE; e/ou é associado à superfície externa de uma membrana micelar de nanopartículas de AE. Uma substância ou agente a ser distribuído em conjunto com nanopar-

tículas de AE e/ou composições de nanopartículas pode ser ou não covalente-
mente ligado às nanopartículas de AE e/ou às composições de nanopartí-
cula. Uma substância ou agente a ser distribuído em conjunto com nanopar-
tículas e/ou composições de nanopartículas pode ser ou não ligado às na-
5 nanopartículas de AE e/ou composições de nanopartículas por forças de ad-
sorção.

Isolado: conforme usado neste relatório, o termo "isolado" refere-
se a uma substância ou entidade que (1) foi separada de pelo menos alguns
dos componentes aos quais ela foi associada quanto inicialmente produzida
10 (seja na natureza e/ou em um cenário experimental), e/ou (2) foi produzida,
preparada, e/ou fabricada pelo homem. As substâncias e/ou entidades iso-
ladas podem ser separadas de pelo menos cerca de 10%, cerca de 20%,
cerca de 30%, cerca de 40%, cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de 70%,
cerca de 80%, cerca de 90%, ou mais dos outros componentes aos quais
15 elas foram inicialmente associadas. Em algumas modalidades, as substâ-
ncias e/ou entidades isoladas são mais de 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%,
96%, 97%, 98%, 99% puras.

Microfluidificado: conforme usado neste relatório, o termo "micro-
fluidificado" significa exposto a forças de alto cisalhamento. Em algumas
20 modalidades, tal exposição a forças de alto cisalhamento é feita por exposi-
ção à pressão alta; em algumas modalidades esta pressão alta está na faixa
de cerca de 103,42 a 179,26 bar (cerca de 15.000 a cerca de 26.000 psi).
Em algumas modalidades, tal exposição a forças de alto cisalhamento é feita
por cavitação. Em algumas modalidades, tal exposição a forças de alto cisa-
25 lhamento é feita passando-se uma amostra através de um instrumento tal
como, por exemplo, um Microfluidizer® (Microfluidics Corporation/MFIC Cor-
poration) ou outro dispositivo similar que pode ser útil na criação de uma
composição de nanopartículas uniforme. Em algumas modalidades da pre-
sente invenção, uma amostra é microfluidificada através de exposição a for-
30 ças de alto cisalhamento por um período de tempo menor que cerca de 10
minutos. Em algumas modalidades, o período de tempo é menor que cerca
de 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, ou 1 minuto(s). Em algumas modalidades, o período

de tempo está na faixa de cerca de 1-2 minutos. Em algumas modalidades, o período de tempo é menor que 1 minuto. Em algumas modalidades, o período de tempo é de cerca de 30 segundos. Em algumas modalidades da invenção, uma amostra é "microfluidificada" através de uma única exposição a forças de alto cisalhamento; tais modalidades são denominadas microfluidificação de "passe único".

Nanopartícula: conforme usado neste relatório, o termo "nanopartícula" refere-se a qualquer partícula tendo um diâmetro inferior a 1000 nanômetros (nm). Em algumas modalidades, a nanopartícula tem um diâmetro inferior a 300 nm, conforme definido pela National Science Foundation. Em algumas modalidades, a nanopartícula tem um diâmetro inferior a 100 nm conforme definido pelo National Institutes of Health. Em algumas modalidades, nanopartículas são micelas visto que elas compreendem um compartimento embutido, separado da solução em massa por uma membrana micelar. Uma "membrana micelar" compreende entidades anfifílicas que foram agregadas para envolver e embutir um espaço ou compartimento (por exemplo, para definir um lúmen).

Composição de nanopartículas: conforme usado neste relatório, o termo "composição de nanopartículas" refere-se a qualquer substância que contenha pelo menos uma nanopartícula de AE. Em algumas modalidades, uma composição de nanopartículas é um conjunto uniforme de nanopartículas de AE. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas são dispersões ou emulsões. Em geral, uma dispersão ou emulsão é formada quando pelo menos dois materiais imiscíveis são combinados. Um dispersão de "óleo-em-água" é aquela na qual partículas oleosas (ou hidrofóbicas ou não-polares) são dispersadas em um meio de dispersão aquoso. Uma dispersão de "água em óleo" é aquela na qual partículas aquosas (ou hidrofílicas ou polares) são dispersadas em um meio de dispersão oleoso. Os versados na técnica vão perceber que é possível formar uma dispersão a partir de quaisquer dois meios imiscíveis e não está estritamente limitada a combinações de meios aquosos e oleosos. O termo "meio de dispersão" aplica-se portanto amplamente a qualquer meio de dispersão embora seja comum

mencionar as categorias "aquosa" e "oleosa". Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas são nanoemulsões. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendem micelas. Em algumas modalidades, uma composição de nanopartículas é estável. Em algumas 5 modalidades, uma composição de nanopartículas inclui um ou mais agentes biologicamente ativos a serem distribuídos em conjunto com as nanopartículas de AE.

Não contaminado com: a expressão "não contaminado com", quando usada neste relatório para indicar uma composição de nanopartículas, é sinônimo de "substancialmente livre de" e descreve uma composição de nanopartículas contendo no máximo cerca de 50% do material indicado. Por exemplo, quando se disser que uma composição de nanopartículas é "substancialmente livre de" partículas cujo diâmetro está fora de uma faixa estipulada, então no máximo cerca de 50% das partículas naquela composição têm diâmetros fora da faixa. Em algumas modalidades, no máximo 25% das partículas estão fora da faixa. Em algumas modalidades, no máximo 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% das partículas ou menos têm diâmetros fora da faixa estipulada.

Ácido nucleico: conforme usado neste relatório, o termo "ácido nucleico", em seu sentido mais amplo, refere-se a qualquer composto e/ou substância que pode ser incorporada em uma cadeia oligonucleotídica. Em algumas modalidades, "ácido nucleico" abrange RNA assim como DNA de cordão simples e/ou duplo e/ou cDNA. Além disso, os termos "ácido nucleico", "DNA", "RNA", e/ou termos similares incluem análogos de ácidos nucleicos, isto é, análogos tendo algo mais que uma cadeia fosfodiéster. Por exemplo, os chamados "ácidos nucleicos peptídicos", que são conhecidos na técnica e possuem ligações peptídicas no lugar de ligação fosfodiéster no esqueleto, são considerados dentro do escopo da presente invenção. O termo "sequência de nucleotídeos codificando uma sequência de aminoácidos" inclui todas as sequências de nucleotídeos que são versões degeneradas uma da outra e/ou que codificam a mesma sequência de aminoácidos. Se-

* quências de nucleotídeos que codificam proteínas e/ou RNA podem incluir introns.

5 Nutracêutico: conforme usado neste relatório, o termo "nutracêutico" refere-se a qualquer substância que se acredita oferecer benefícios médicos, para a saúde, ou biológicos. Em algumas modalidades, os nutracêuticos podem prevenir doenças. Em algumas modalidades, os nutracêuticos podem proporcionar valor nutricional básico. Em algumas modalidades, um nutracêutico é um alimento ou faz parte de um alimento. Em algumas modalidades, um agente nutracêutico pode ser uma classe de nutrientes 10 isolados, suplementos dietéticos, vitaminas, minerais, ervas, alimentos fortificados, alimentos cicatrizantes, alimentos geneticamente construídos, e alimentos processados. Os nutracêuticos também podem ser chamados de "alimentos fitoquímicos" ou "alimentos funcionais".

15 Paciente: um "paciente", ou "indivíduo", conforme usado neste relatório, significa um animal. Em algumas modalidades, o animal é um mamífero, geralmente um ser humano.

20 Pré-mistura: conforme usado neste relatório, o termo "pré-mistura" refere-se a qualquer combinação de componentes que é subsequentemente usada para gerar uma composição de nanopartículas de acordo com a presente invenção. Por exemplo, uma pré-mistura é um conjunto de ingredientes que, quando submetidos a forças de alto cisalhamento, gera nanopartículas de AE de acordo com a presente invenção. Em algumas modalidades, uma pré-mistura contém dois ou mais solventes imiscíveis. Em algumas modalidades, uma pré-mistura contém componentes que se juntam automaticamente formando micropartículas ou nanopartículas. Em algumas modalidades, uma pré-mistura contém componentes que se juntam automaticamente formando micelas. Em algumas modalidades, uma pré-mistura contém um ou mais peptídios como descrito no pedido PCT série número *.
25 PCT/US07/_____ intitulado "Peptide Nanoparticles and Uses Therfor",
30 depositado em 30 de novembro de 2007. Em algumas modalidades, uma pré-mistura contém um ou mais peptídios não modificados; em algumas modalidades, uma pré-mistura contém pelo menos um outro agente biologica-

mente ativo. Em algumas modalidades, uma pré-mistura é agitada, misturada, e/ou mexida; em algumas modalidades, uma pré-mistura é agitada, misturada, e/ou mexida antes de ser submetida a uma força de alto cisalhamento. Em algumas modalidades, uma pré-mistura compreende pelo menos um componente solubilizado (isto é, pelo menos um componente que está em solução); em algumas destas modalidades, a pré-mistura é submetida a uma força de alto cisalhamento depois de efetuada tal solubilização.

Puro: conforme usado neste relatório, uma substância e/ou entidade é "pura" se ela for substancialmente livre de outros componentes. Por exemplo, uma preparação que contém mais de cerca de 90% de uma substância e/ou entidade particular é tipicamente considerada uma preparação pura. Em algumas modalidades, uma substância e/ou entidade é pelo menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, ou 99% pura.

Força de cisalhamento: conforme usado neste relatório, o termo "força de cisalhamento" refere-se a uma força que é paralela à face de um material, em oposição a uma força que é perpendicular à face de um material. Em algumas modalidades, uma composição é exposta a forças de alto cisalhamento para produzir uma composição de nanopartículas uniforme. Qualquer método conhecido na literatura pode ser usado para gerar forças de alto cisalhamento. Em algumas modalidades, cavitação é usada para gerar forças de alto cisalhamento. Em algumas modalidades, homogeneização à pressão alta é usada para gerar forças de alto cisalhamento. Alternativamente ou adicionalmente, a força de alto cisalhamento pode ser administrada através de exposição à pressão alta, por exemplo cerca de 103,42 MPa (cerca de 15.000 psi). Em algumas modalidades, tal pressão alta está na faixa de cerca de 1240,2 a cerca de 1791,4 bar (cerca de 18.000 a cerca de 26.000 psi); em algumas modalidades, ela está na faixa de cerca de 137,89 a cerca de 172,37 MPa (cerca de 20.000 a cerca de 25.000 psi). Em algumas modalidades, um Processador Micro fluidizer® (Microfluidics Corporation/MFIC Corporation) ou outro dispositivo similar é usar para gerar a força de alto cisalhamento. Os Processadores Microfluidizer® fornecem pressão alta e uma alta taxa de cisalhamento resultante por aceleração de uma com-

posição através de microcanais (tipicamente com dimensões da ordem de 75 microns) a uma velocidade alta (tipicamente na faixa de 50 m/s a 300 m/s) para reduzir o tamanho até a faixa de nanoscala. Quando o fluido deixa os microcanais ele forma jatos que colidem com jatos provenientes de microcanais opostos. No canais o fluido sofre alto cisalhamento (até 10^7 l/s) que é ordens de grandeza mais alto que o das tecnologias convencionais. As colisões dos jatos resultam em mistura em nível submicrônico. Portanto, nestes dispositivos, alto cisalhamento e/ou impacto pode produzir redução do tamanho das partículas e pela misturação de multifases. Em algumas modalidades da presente invenção, uma amostra é exposta a forças de alto cisalhamento por um período de tempo menor que cerca de 10 minutos. Em algumas modalidades, o período de tempo é menor que cerca de 9, cerca de 8, cerca de 7, cerca de 6, cerca de 5, cerca de 4, cerca de 3, cerca de 2, ou cerca de 1 minuto(s). Em algumas modalidades, o período de tempo está na faixa de cerca de 1 a cerca de 2 minutos ou menos; em algumas modalidades, o período de tempo é cerca de 30 segundos. Em algumas modalidades da invenção, uma amostra é "microfluidificada" através de uma única exposição a forças de alto cisalhamento; tais modalidades são neste relatório chamadas de microfluidificação de "passe único".

Molécula pequena: em geral, na literatura entende-se por "molécula pequena" uma molécula orgânica que tem um tamanho menor que cerca de 5 quilodáltons (Kd). Em algumas modalidades, a molécula pequena é menor que cerca de 3 Kd, cerca de 2 Kd, ou cerca de 1 Kd. Em algumas modalidades, a molécula pequena é menor que cerca de 800 dáltons (D), cerca de 600 D, cerca de 500 D, cerca de 400 D, cerca de 300 D, cerca de 200 D, ou cerca de 100 D. Em algumas modalidades, as moléculas pequenas não são poliméricas. Em algumas modalidades, as moléculas pequenas não são proteínas, peptídios, ou aminoácidos. Em algumas modalidades, as moléculas pequenas não são ácidos nucleicos ou nucleotídeos. Em algumas modalidades, as moléculas pequenas não são sacarídeos ou polissacarídeos.

Indivíduo: conforme usado neste relatório, o termo "indivíduo" ou

"paciente" refere-se a qualquer organismo ao qual uma composição desta invenção pode ser administrada, por exemplo, para fins experimentais, diagnósticos, profiláticos, e/ou terapêuticos. Indivíduos típicos incluem animais (por exemplo, mamíferos tais como camundongos, ratos, coelhos, primatas não-humanos, e seres humanos; insetos; lagartas etc.).

Substancialmente: conforme usado neste relatório, o termo "substancialmente" à condição qualitativa de apresentar uma extensão ou grau total ou quase total de uma característica ou propriedade de interesse. O versado em ciências biológicas vai entender que fenômenos biológicos e químicos, quando ocorrem, raramente chegam ao fim e/ou prosseguem até seu término ou alcançam ou evitam um resultado absoluto. O termo "substancialmente" é portanto usado neste relatório para capturar a potencial falta de conclusão inerente a muitos fenômenos biológicos e químicos.

Estável: o termo "estável", quando aplicado a composições de nanopartículas neste relatório, significa que as composições mantêm um ou mais aspectos de sua estrutura física (por exemplo, faixa de tamanho e/ou distribuição de partículas) por um período de tempo. Em algumas modalidades da invenção, uma composição de nanopartículas estável é aquela para a qual o tamanho médio das partículas, o tamanho máximo das partículas, a faixa de tamanhos das partículas, e/ou a distribuição de tamanhos das partículas (isto é, o percentual de partículas acima de um tamanho designado e/ou fora de uma faixa de tamanhos designada) é mantido por um período de tempo. Em algumas modalidades, o período de tempo é pelo menos cerca de uma hora; em algumas modalidades o período de tempo é cerca de 5 horas, cerca de 10 horas, cerca de um (1) dia, cerca de uma (1) semana, cerca de duas (2) semanas, cerca de um (1) mês, cerca de dois (2) meses, cerca de três (3) meses, cerca de quatro (4) meses, cerca de cinco (5) meses, cerca de seis (6) meses, cerca de oito (8) meses, cerca de dez (10) meses, cerca de doze (12) meses, cerca de vinte e quatro (24) meses, ou maior. Em algumas modalidades, o período de tempo está na faixa de cerca de um (1) dia a cerca de vinte e quatro (24) meses, cerca de duas (2) semanas a cerca de doze (12) meses, cerca de dois (2) meses a cerca de cinco (5)

meses, etc. Por exemplo, se uma composição de nanopartículas for submetida a armazenamento prolongado, variações de temperatura, e/ou variações de pH e uma maioria das nanopartículas na população mantiver um diâmetro dentro de uma faixa estipulada (isto é, por exemplo, entre aproximadamente 5 10 nm - 120 nm), a composição de nanopartículas é estável. Para algumas dessas populações, uma maioria é mais que cerca de 50%, cerca de 60%, cerca de 70%, cerca de 80%, cerca de 90%, cerca de 95%, cerca de 96%, cerca de 97%, cerca de 98%, cerca de 99%, cerca de 99,5%, cerca de 99,6%, cerca de 99,7%, cerca de 99,8%, cerca de 99,9%, ou mais. Em al-10 gumas modalidades da invenção, quando uma composição de nanopartículas compreende um ou mais agentes biologicamente ativos (por exemplo toxina botulínica), a composição de nanopartículas será considerada estável se a concentração de agente biologicamente ativo for mantida na composição durante o período de tempo designado em um conjunto estipulado de 15 condições.

Substancialmente livre de: uma composição de nanopartículas da invenção é considerada "substancialmente livre de" partículas cujo diâmetro está fora de uma faixa estipulada quando não mais que cerca de 50% das partículas naquela composição tiverem diâmetros fora da faixa. Em al-20 gumas modalidades, não mais que 25% das partículas estão fora da faixa. Em algumas modalidades, não mais que 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% ou me- nos das partículas têm diâmetros fora da faixa estipulada.

Sofrendo de: um indivíduo que está "sofrendo de" uma doença, 25 distúrbio, ou condição (por exemplo, rugas faciais) foi diagnosticado com a doença, distúrbio, ou condição ou apresentada sintomas da mesma.

Quantidade terapeuticamente eficaz: conforme usado neste relatório, o termo "quantidade terapeuticamente eficaz" significa uma quantidade da composição de nanopartículas de AE da invenção que é suficiente, quan-30 do administrada a um paciente sofrendo ou suscetível a uma doença, distúrbio, e/ou condição, para tratar a doença, distúrbio, e/ou condição.

Agente terapêutico: conforme usado neste relatório, a expressão

"agente terapêutico" refere-se a qualquer agente que, quando administrado a um indivíduo, tem um efeito terapêutico e/ou produz um efeito biológico e/ou farmacológico desejado.

Solvente tóxico: conforme usado neste relatório, o termo "solvente tóxico" refere-se a qualquer substância que pode alterar, romper, remover, ou remover tecido de um animal. Como será entendido pelo versado na técnica, tecido de um animal pode incluir células vivas, células mortas, matriz extracelular, junções celulares, moléculas biológicas etc. Para dar apenas alguns exemplos, solventes tóxicos incluem sulfóxido de dimetila, dimetil acetimida, dimetil foramida, clorofórmio, tetrametil foramida, acetona, acetatos, e alcanos.

Tratamento: conforme usado neste relatório, o termo "tratamento" (também "tratar" ou "tratando") refere-se a qualquer administração de um agente biologicamente ativo que alivia, melhora, atenua, inibe, retarda o apacimento, reduz a severidade, e/ou reduz a incidência, parcial ou completamente, de um ou mais sintomas ou aspectos de uma doença, distúrbio, e/ou condição particular (por exemplo, rugas faciais). Tal tratamento pode ser feito em um indivíduo que não apresenta sinais da doença, distúrbio e/ou condição relevante e/ou em um indivíduo que apresenta apenas os primeiros sinais da doença, distúrbio e/ou condição. Alternativamente ou adicionalmente, tal tratamento pode ser feito em um indivíduo que apresenta um ou mais sinais estabelecidos da doença, distúrbio e/ou condição relevante.

Uniforme: o termo "uniforme", quando usado neste relatório em relação a uma composição de nanopartículas, refere-se a uma composição de nanopartículas na qual as nanopartículas individuais têm uma faixa específica de tamanhos de diâmetro de partícula. Por exemplo, em algumas modalidades, uma composição de nanopartículas uniforme é aquela na qual a diferença entre o diâmetro mínimo e o diâmetro máximo não ultrapassa aproximadamente 600, aproximadamente 550, aproximadamente 500, aproximadamente 450, aproximadamente 400, aproximadamente 350, aproximadamente 300, aproximadamente 250, aproximadamente 200, aproximadamente 150, aproximadamente 100, aproximadamente 90, aproximadamente

80, aproximadamente 70, aproximadamente 60, aproximadamente 50, ou menos nm. Em algumas modalidades, as partículas (por exemplo, nanopartículas de AE) nas composições de nanopartículas uniformes da invenção têm diâmetros que são menores que cerca de 600, cerca de 550, cerca de 500, cerca de 450, cerca de 400, cerca de 350, cerca de 300, cerca de 250, cerca de 200, cerca de 150, cerca de 130, cerca de 120, cerca de 115, cerca de 110, cerca de 100, cerca de 90, cerca de 80 nm, ou menos. Em algumas modalidades, as partículas (por exemplo, nanopartículas de AE) nas composições de nanopartículas uniformes da invenção têm diâmetros na faixa de cerca de 10 a cerca de 600 nanômetros. Em algumas modalidades, as partículas (por exemplo, nanopartículas de AE) nas composições de nanopartículas uniformes da invenção têm diâmetros na faixa de cerca de 10 a cerca de 300, cerca de 10 a cerca de 200, cerca de 10 a cerca de 150, cerca de 10 a cerca de 130, cerca de 10 a cerca de 120, cerca de 10 a cerca de 115, cerca de 10 a cerca de 110, cerca de 10 a cerca de 100, ou cerca de 10 a cerca de 90 nm. Em algumas modalidades, as partículas (por exemplo, nanopartículas de AE) nas composições de nanopartículas botulínicas da invenção têm um tamanho de partícula médio que é inferior a cerca de 300, cerca de 250, cerca de 200, cerca de 150, cerca de 130, cerca de 120, cerca de 115, cerca de 110, cerca de 100, ou cerca de 90 nm. Em algumas modalidades, o tamanho de partícula médio está na faixa de cerca de cerca de 10 a cerca de 300, cerca de 50 a cerca de 250, cerca de 60 a cerca de 200, cerca de 65 a cerca de 150, cerca de 70 a cerca de 130 nm. Em algumas modalidades, o tamanho de partícula médio é de cerca de 80 a cerca de 110 nm. Em algumas modalidades, o tamanho de partícula médio é de cerca de 90 a cerca de 100 nm. Em algumas modalidades, uma maioria das partículas (por exemplo, nanopartículas de AE) nas composições de nanopartículas uniformes da invenção têm diâmetros menores que um tamanho específico ou dentro de uma faixa específica. Em algumas modalidades, a maioria é mais de 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9% ou mais das partículas na composição. Em algumas modalidades da invenção, uma composição de nanopartículas

uniforme é obtida através de microfluidificação de uma amostra. Em algumas modalidades da invenção, uma composição de nanopartículas uniforme é preparada através de exposição a uma força de alto cisalhamento, por exemplo, por microfluidificação.

- 5 Vetor: conforme usado neste relatório, "vetor" refere-se a uma molécula de ácido nucleico que transporta um outro ácido nucleico ao qual ele fora ligado. Em algumas modalidades, os vetores podem efetuar replicação e/ou expressão extracromossômicas dos ácidos nucleicos aos quais eles estão ligados em uma célula hospedeira tal como uma célula eucariótica e/ou procariótica. Vetores capazes de direcionar a expressão de genes operacionalmente ligados são chamados neste relatório de "vetores de expressão".
- 10

Descrição de Certas Modalidades Preferidas

Nanopartículas de Entidades Anfifílicas (AE)

- 15 Em algumas modalidades, a presente invenção oferece composições contendo nanopartículas de AE. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas são estáveis (isto é, as partículas da composição de nanopartículas permanecem dentro de uma faixa estipulada ao longo do tempo e quando submetidas a alterações de p e/ou pH). Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas são estéreis (isto é, a composição de nanopartículas não contém contaminantes celulares vivos). Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas são resistentes a bactérias (isto é, as composições de nanopartículas caracterizam-se por não apresentarem crescimento bacteriano observável). Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE são completamente livres ou substancialmente livres de componentes tóxicos. Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE são completamente livres ou substancialmente livres de componentes tóxicos.
- 20
- 25

- 30 Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas são uniformes. Em algumas modalidades, uma composição de nanopartículas uniforme compreende uma população de partículas cuja diferença entre os diâmetros mínimo e máximo não ultrapassa aproximadamente 600 nm,

aproximadamente 550 nm, aproximadamente 500 nm, aproximadamente 450 nm, aproximadamente 400 nm, aproximadamente 350 nm, aproximadamente 300 nm, aproximadamente 250 nm, aproximadamente 200 nm, aproximadamente 150 nm, ou aproximadamente 100 nm.

5 Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE das composições de nanopartículas da invenção têm diâmetros que são menores que cerca de 1000, cerca de 600, cerca de 550, cerca de 500, cerca de 450, cerca de 400, cerca de 350, cerca de 300, cerca de 250, cerca de 200, cerca de 150, cerca de 130, cerca de 120, cerca de 115, cerca de 110, cerca de 100, 10 cerca de 90, cerca de 80, cerca de 50 nm, ou menos.

Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE da invenção têm um diâmetro de 1 a 1000 nm, 1 a 600 nm, 1 a 500 nm, 1 a 400 nm, 1 a 300 nm, 1 a 200 nm, 1 a 150 nm, 1 a 120 nm, 1 a 100 nm, 1 a 75 nm, 1 a 50 nm, ou 1 a 25 nm. Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE da 15 invenção têm um diâmetro de 1 a 15 nm, 15 a 200 nm, 25 a 200 nm, 50 a 200 nm, ou 75 a 200 nm.

Em algumas modalidades, a distribuição das partículas totais está contida na faixa estipulada de tamanhos de diâmetro de partícula. Em algumas modalidades, menos de 50%, 25%, 10%, 5%, ou 1% da distribuição 20 das partículas totais está fora da faixa estipulada de tamanhos de diâmetro de partícula. Em algumas modalidades, menos de 1% da distribuição das partículas totais está fora da faixa estipulada de tamanhos de diâmetro de partícula. Em certas modalidades, a composição de nanopartículas é substancialmente livre de partículas com um diâmetro maior que 300 nm, 250 nm, 200 nm, 150 nm, 120 nm, 100 nm, 75 nm, 50 nm, ou 25 nm.

Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE nas composições de nanopartículas da invenção têm um tamanho de partícula médio que é menor que cerca de 300, cerca de 250, cerca de 200, cerca de 150, cerca de 130, cerca de 120, cerca de 115, cerca de 110, cerca de 100, cerca 30 de 90, ou cerca de 50 nm. Em algumas modalidades, o tamanho de partícula médio está na faixa de cerca de 10 a cerca de 300, cerca de 50 a cerca de 250, cerca de 60 a cerca de 200, cerca de 65 a cerca de 150, cerca de 70 a

cerca de 130 nm. Em algumas modalidades, o tamanho de partícula médio é de cerca de 80 a cerca de 110 nm. Em algumas modalidades, o tamanho de partícula médio é de cerca de 90 a cerca de 100 nm.

Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas da invenção são substancialmente livres de partículas com um diâmetro superior a 300 nm. Especificamente, em algumas modalidades, menos de 50%, das nanopartículas nas composições de nanopartículas da invenção têm um diâmetro superior a 300 nm. Em algumas modalidades, menos de 25% das partículas têm um diâmetro superior a 300 nm. Em algumas modalidades, 5 menos de 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% ou menos das partículas têm um diâmetro superior a 300 nm. Além disso, em algumas modalidades, as nanopartículas nas composições de nanopartículas da invenção têm diâmetros na faixa de 10 a 300 nm.

15 Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas da invenção são substancialmente livres de partículas com um diâmetro superior a 200 nm. Especificamente, em algumas modalidades, menos de 50%, das nanopartículas nas composições de nanopartículas da invenção têm um diâmetro superior a 200 nm. Em algumas modalidades, menos de 25% das 20 partículas têm um diâmetro superior a 200 nm. Em algumas modalidades, menos de 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% ou menos das partículas têm um diâmetro superior a 200 nm. Além disso, em algumas modalidades, as nanopartículas nas composições de nanopartículas da invenção têm diâmetros na 25 faixa de 10 a 200 nm.

Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas da invenção são substancialmente livres de partículas com um diâmetro superior a 120 nm. Especificamente, em algumas modalidades, menos de 50%, das nanopartículas nas composições de nanopartículas da invenção têm um 30 diâmetro superior a 120 nm. Em algumas modalidades, menos de 25% das partículas têm um diâmetro superior a 120 nm. Em algumas modalidades, menos de 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 10%, 9%, 8%,

7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% ou menos das partículas têm um diâmetro superior a 120 nm. Além disso, em algumas modalidades, as nanopartículas nas composições de nanopartículas da invenção têm diâmetros na faixa de 10 a 120 nm.

5 Em algumas modalidades, uma maioria das nanopartículas de AE nas composições da invenção têm diâmetros abaixo de um tamanho estipulado ou dentro de uma faixa estipulada. Em algumas modalidades, a maioria é mais de 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9% ou mais das partículas na
10 composição.

Potencial zeta é uma medida do potencial elétrico em um plano de cisalhamento. Um plano de cisalhamento é uma superfície imaginária separando uma fina camada de líquido líquida a uma superfície sólida (por exemplo a superfície das nanopartículas da invenção) e apresentando um
15 comportamento elástico em relação ao resto do líquido (por exemplo meio de dispersão líquido) apresentando comportamento viscoso normal. Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE da invenção têm um potencial zeta variando entre -50 mV e +50 mV. Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE da invenção têm um potencial zeta variando entre -25 mV e
20 +25 mV. Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE da invenção têm um potencial zeta variando entre -10 mV e +10 mV.

Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE são micelas. Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE oferecidas de acordo com a presente invenção são nanoesferas. Em algumas modalidades, as
25 nanopartículas de AE compreendem uma ou mais entidades anfifílicas. As nanopartículas de AE da invenção podem opcionalmente compreender um ou mais meios de dispersão, tensoativos, agentes biologicamente ativos, ou componentes retardadores da liberação.

As composições de nanopartículas da invenção podem ser e-
30 mulsões ou dispersões. Em algumas modalidades, as composições são dispersões de "óleo-em-água" (isto é, dispersões nas quais partículas oleosas são dispersadas em um meio de dispersão aquoso); em algumas modalida-

des, as composições são dispersões de "água em óleo" (isto é, dispersões nas quais partículas aquosas são dispersadas em um meio de dispersão oleoso). Em algumas modalidades, algumas ou todas as nanopartículas têm uma estrutura micelar na qual um lúmen é envolvido por uma "membrana" 5 micelar. Em algumas dessas modalidades, o lúmen da micela tem o mesmo caráter (por exemplo aquoso vs. oleoso) que o meio de dispersão e a membrana micelar tem o caráter oposto (por exemplo, oleoso vs. aquoso); em algumas modalidades, o lúmen da micela tem o mesmo caráter que a membrana micelar e o meio de dispersão tem o caráter oposto.

10 Pré-mistura

Em algumas modalidades, a invenção oferece métodos para a preparação das nanopartículas de AE da invenção. O método geralmente envolve combinar uma ou mais entidades anfifílicas para formar uma "pré-mistura" e aplicar forças de alto cisalhamento à pré-mistura. A pré-mistura 15 geralmente contém uma ou mais entidades anfifílicas e um ou mais meios de dispersão. Em algumas modalidades, a pré-mistura pode conter uma ou mais substâncias adicionais tais como, por exemplo, tensoativos, agentes biologicamente ativos, componentes retardadores da liberação, etc. Os versados na técnica, no entanto, não perceber que não é essencial que todos 20 componentes estejam necessariamente presentes na pré-mistura (ou que estejam presentes em sua quantidade eventual total) na pré-mistura; em alguns casos pode ser desejável ou apropriado acrescentar ou suplementar um ou mais componentes posteriormente.

Em algumas modalidades, os componentes da pré-mistura são 25 selecionados e/ou mantidos em condições que permitem a formação de nanopartículas antes de as forças de alto cisalhamento serem aplicadas. Em algumas modalidades, a pré-mistura não é mantida em condições que permitem a formação de nanopartículas antes de as forças de alto cisalhamento serem aplicadas. Em algumas modalidades, essas partículas são nanopartículas ou micropartículas. Em algumas modalidades, essas partículas são 30 micelas. Em algumas modalidades, deixa-se que se formem nanopartículas a partir dos componentes da pré-mistura antes de as forças de alto cisalha-

mento serem aplicadas. Em algumas modalidades, a formação de nanopartículas na pré-mistura é inibida antes de as forças de alto cisalhamento serem aplicadas. Em certas modalidades, as forças de alto cisalhamento são aplicadas depois da formação de nanopartículas a partir dos componentes da pré-mistura. Em certas modalidades, as forças de alto cisalhamento são aplicadas antes da formação de nanopartículas a partir dos componentes da pré-mistura. Em certas modalidades, as forças de alto cisalhamento são aplicadas durante a formação de nanopartículas a partir dos componentes da pré-mistura.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece métodos para a produção de nanopartículas de AE. O método geralmente envolve preparar uma pré-mistura de duas ou mais entidades anfifílicas e submeter a pré-mistura a forças de alto cisalhamento. Em algumas modalidades, a pré-mistura pode compreender um ou mais meios de dispersão, tensoativos, agentes biologicamente ativos, ou componentes retardadores da liberação.

Em algumas modalidades, os métodos de produção das nanopartículas de AE da invenção envolvem as etapas de fornecer uma pré-mistura, deixar ou induzir a formação de partículas (por exemplo, nanopartículas, micropartículas, e/ou micelas) na pré-mistura, e submeter as partículas a forças de alto cisalhamento para que seja obtida uma composição de nanopartículas da invenção. Em algumas modalidades, a formação de partículas na pré-mistura pode ser por polimerização em emulsão, formação automática, ou por qualquer outra técnica conhecida para produzir micropartículas ou nanopartículas.

Em certas modalidades, a formação de partículas na pré-mistura pode envolver as etapas de dissolver uma entidade anfifílica em um meio de dispersão, gradualmente acrescentar água à solução de meio de dispersão e entidade anfifílica, e esperar a formação automática de partículas (por exemplo nanopartículas, micropartículas, e/ou micelas). Em algumas modalidades, a formação de partículas pode ser induzida por resfriamento lento da solução.

Em certas modalidades, a formação de partículas na pré-mistura

pode envolver as etapas de dissolver um entidade anfifílica em um meio de dispersão tal como água, agitar por 5, 6, 1 , 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, ou 15 horas enquanto deixa-se ocorrer a formação de partículas (por exemplo nanopartículas, micropartículas, e/ou micelas), dialisar contra água para remover qualquer meio de dispersão orgânico para estabilizar as partículas, liofilar para produzir uma composição.

Em algumas modalidades da presente invenção que utilizam uma pré-mistura, deve ficar entendido que os componentes da pré-mistura podem se juntar formando partículas antes da aplicação da força de alto cisalhamento. Pelo menos algumas dessas partículas podem ser micropartículas ou mesmo nanopartículas. Em algumas modalidades, uma composição de nanopartículas da invenção é preparada a partir de uma pré-mistura, onde a pré-mistura é selecionada do grupo que compreende uma suspensão ou uma microemulsão. Em algumas modalidades, no entanto, estruturas de partículas não se formam na pré-mistura antes da aplicação da força de alto cisalhamento.

Em algumas modalidades da presente invenção, todos os componentes presentes na composição final de nanopartículas estão presentes na pré-mistura e são submetidos a uma força de alto cisalhamento para produzir a composição de nanopartículas. Em algumas modalidades da presente invenção, um ou mais dos componentes que estão presentes na composição final de nanopartículas estão ausentes na pré-mistura ou estão presentes na pré-mistura em uma quantidade menor que na composição final de nanopartícula. Isto é, em algumas modalidades da presente invenção, um ou mais materiais são adicionados à composição de nanopartículas depois de a pré-mistura ser submetida a uma força de alto cisalhamento.

Em certas modalidades da invenção, a pré-mistura é preparada como uma solução antes da aplicação da força de alto cisalhamento. Em particular, para as composições de nanopartículas que incluem pelo menos um agente biologicamente ativo (por exemplo, um peptídio não modificado), geralmente é desejável que o agente biologicamente ativo seja dissolvido na pré-mistura antes da aplicação da força de alto cisalhamento. Por conse-

guinte, em muitas modalidades, o agente biologicamente ativo é solúvel em pelo menos um dos meios (ou em uma combinação dos meios utilizados na pré-mistura). Em algumas modalidades da invenção, tal dissolução requer aquecimento; em outras modalidades, não.

5 Abaixo, discutimos componentes exemplares de uma pré-mistura que é submetida a uma força de alto cisalhamento de acordo com a presente invenção.

Entidades Anfifílicas

A presente invenção oferece nanopartículas e composições de
10 nanopartículas compreendendo entidades anfifílicas. Entidades anfifílicas úteis incluem entidades naturais, entidades sintéticas, e entidades que contêm tanto componentes naturais quanto componentes sintéticos. Em algumas modalidades, as entidades anfifílicas podem compreender um ou mais polímeros, e/ou um ou mais compostos com caráter polimérico.

15 Como discutido acima, uma entidade anfifílica é uma entidade de natureza tanto hidrofóbica quanto hidrofílica. Como será observado pelos versados na técnica, uma entidade anfifílica pode ser compreendida de qualquer número de maneiras diferentes. Em algumas modalidades, uma entidade anfifílica pode compreender um ou mais compostos ou substâncias
20 individuais que são anfifílicas. Para citar apenas alguns exemplos, tais como compostos ou moléculas incluem polietileno glicol (PEG), fosfolipídios, colesterolis, glicolipídios, ácidos graxos, ácidos biliares, e saponinas. PEG geralmente é reconhecido como seguro para uso em gêneros alimentícios, cosméticos, e medicamentos pela US Food and Drug Administration. PEG é
25 solúvel em água, atóxico, inodoro, lubrificante, não-volátil, e não-irritante.

Em algumas modalidades, uma entidade anfifílica pode compreender um ou mais componentes individuais que não são anfifílicos mas que possuem algum caráter hidrofílico ou hidrofóbico. Em tais modalidades, dois ou mais desses componentes não-anfifílicos serão tipicamente associados a
30 um outro componente de modo que a reunião dos componentes individuais seja anfifílica. Tal associação pode envolver ou não ligação covalente; tal associação pode envolver ligação não-covalente (por exemplo, por meio de

interações eletrostáticas, interações por afinidade, interações hidrofóbicas, ligação de hidrogênio, interações de Van der Waals, interação iônica, interação dipolo-dipolo etc.). Em geral, tal associação pode envolver qualquer força, ligação, ou meio de adesão relevante.

5 Em algumas modalidades, uma entidade anfifílica da presente invenção pode ser construída a partir de dois ou mais componentes individuais tendo diferentes graus de hidrofilicidade ou hidrofobicidade. Em certas modalidades, uma entidade anfifílica pode compreender pelo menos um componente hidrofílico e pelo menos um componente hidrofóbico. Em certas modalidades, os componentes "hidrofílico" e "hidrofóbico" são hidrofílicos 10 ou hidrofóbicos em relação ao outro.

Em algumas modalidades, dois ou mais componentes de diferentes graus de hidrofilicidade ou hidrofobicidade podem unidos por ligações covalentes para formar um homopolímero ou um copolímero. Em algumas 15 modalidades, um copolímero pode ser um copolímero em blocos. Em algumas modalidades, um copolímero pode ser um copolímero de enxerto.

Em algumas modalidades, uma entidade anfifílica pode compreender ou consistir em um copolímero em blocos anfifílico. Em algumas modalidades, um copolímero em blocos anfifílico pode ser um copolímero dibloco. Em certas modalidades, um copolímero dibloco anfifílico pode compreender um primeiro bloco de polímero e um segundo bloco de polímero conectado covalentemente às extremidades de cadeia. Em modalidades específicas, o primeiro bloco de polímero pode compreender unidades repetitivas de um componente hidrofílico, e o segundo bloco de polímero pode 20 compreender unidades repetitivas de um componente hidrofóbico. Em modalidades específicas, o primeiro bloco de polímero pode compreender unidades repetitivas de um componente hidrofóbico, e o segundo bloco de polímero pode compreender unidades repetitivas de um componente hidrofílico. Em algumas modalidades, um copolímero em blocos anfifílico pode ser 25 um copolímero multiblocos. Em certas modalidades, um copolímero em blocos anfifílico pode compreender vários blocos alternados de dois ou mais polímeros conectados covalentemente às extremidades de cadeia. Em mo-

5 modalidades específicas, um copolímero em blocos anfifílico pode compreender vários blocos hidrofílicos e vários blocos hidrofóbicos alternados conectados covalentemente às extremidades de cadeia. Em modalidades específicas, cada bloco dos blocos alternados pode compreender unidades repetitivas de componentes hidrofílicos ou de componentes hidrofóbicos.

Em algumas modalidades, uma entidade anfifílica pode compreender ou consistir em um copolímero de enxerto anfifílico. Em algumas modalidades, um copolímero de enxerto anfifílico pode compreender ou consistir em polímeros conectados covalentemente às cadeias laterais dos outros 10 blocos de polímeros. Em modalidades específicas, cada bloco de polímero pode compreender ou consistir em unidades repetitivas de componentes hidrofílicos ou hidrofóbicos. Em certas modalidades, um copolímero de enxerto anfifílico pode compreender ou consistir em um primeiro bloco de polímero e um segundo bloco de polímero conectados covalentemente a uma 15 cadeia lateral do primeiro bloco de polímero. Em certas modalidades, o primeiro bloco de polímero pode compreender ou consistir em unidades repetitivas de um componente hidrofílico, e o segundo bloco pode compreender unidades repetitivas de um componente hidrofílico.

Em algumas modalidades, um copolímero em blocos ou de enxerto anfifílico pode incluir um bloco de polímero hidrofílico compreendendo unidades repetitivas de um polissacarídeo e um bloco de polímero hidrofóbico compreendendo unidades repetitivas de um poliéster ou polissacarídeo. Alternativamente ou adicionalmente, um copolímero em blocos ou de enxerto anfifílico pode incluir um bloco de polímero hidrofóbico compreendendo 20 unidades repetitivas de um polissacarídeo e um bloco de polímero hidrofílico compreendendo unidades repetitivas de um poliéster ou polissacarídeo. Tal bloco de polímero hidrofílico pode conter unidades repetitivas de qualquer tipo de polímero hidrofílico, tal como um polissacarídeo (por exemplo pululan) ou óxido de polialqueno (por exemplo óxido de polietileno). O bloco de 25 polímero hidrofóbico pode conter unidades repetitivas de qualquer tipo de polímero hidrofóbico, tal como uma policaprolactona, poli (ácido lático), poli (ácido glicólico), poli dioxanona, copolímeros destes ou poliamida (por e-

xemplo policaprolactama).

Em algumas modalidades, a porção hidrofílica da entidade anfifílica pode ser atóxica. Em algumas modalidades, o componente hidrofílico de uma entidade anfifílica compreende um ou mais grupos iônicos. Em geral, 5 tais grupos iônicos são hidrofílicos e podem conferir natureza hidrofílica à entidade anfifílica.

Em algumas modalidades, o grupo iônico pode ser catiônico. Em algumas modalidades, o grupo catiônico pode ser um amônio (NH_4^+), nitrônio (NO_2^+), nitrosila (NO^+), hidrônio (H_3O^+), mercuroso (Hg_2^{2+}), fosfônio 10 (PH_4^+), vanadila (VO^{2+}), ou sal dos mesmos.

Em algumas modalidades, o grupo iônico pode ser aniónico. Em algumas modalidades, o grupo aniónico pode ser um ácido graxo, arsenídeo (As^{3-}), azida (N_3^-), brometo (Br^-), cloreto (Cl^-), fluoreto (F^-), hidreto (H^-), iodeto 15 (I^-), nitreto (N^{3-}), óxido (O^{2-}), fosfeto (P^{3-}), seleneto (Se^{2-}), sulfeto (S^{2-}), peróxido (O_2^{2-}), arsenato (AsO_4^{3-}), arsenito (AsO_3^{3-}), borato (BO_3^{3-}), perbromato (BrO_4^-), bromato (BrO_3^-), bromito (BrO_2^-), hipobromito (BrO^-), carbonato (CO_3^{2-}), carbonato ácido (HCO_3^-), clorato (ClO_3^-), perclorato (ClO_4^-), clorito (ClO_2^-), hipoclorito (ClO^-), cromato (CrO_4^{2-}), dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), perfluorato 20 (BrO_4^-), fluorato (BrO_3^-), fluorito (BrO_2^-), hipofluorito (BrO^-), periodato (IO_4^-), iodato (IO_3^-), iodito (IO_2^-), hipoiodito (IO^-), nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), fosfato (PO_4^{3-}), fosfato ácido (HPO_4^{2-}), fosfato diácido (H_2PO_4^-), fosfito (PO_3^{3-}), silicato (SiO_3^{2-}), sulfato (SO_4^{2-}), tiossulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), sulfato ácido (HSO_4^-), sulfito (SO_3^{2-}), sulfito ácido (HSO_3^-), sulfonato (-S (=O)₂-O⁻), acetato ($\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^-$), formiato (HCO_2^-), oxalato ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$), oxalato ácido (HC_2O_4^-), citrato ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$), 25 succinato ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4^{2-}$), fumarato ($\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_4^{2-}$), malato ($\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_5^{2-}$), sulfeto ácido (HS^-), telureto (Te^{2-}), amida (NH_2^-), cianato (OCN^-), tiocianato (SCN^-), cianeto (CN^-), hidróxido (OH^-), permanganato (MnO_4^-), ou sal dos mesmos.

Em algumas modalidades, o componente hidrofílico de uma entidade anfifílica pode compreender ou consistir em um ácido nucleico. Por 30 exemplo, o polímero de ácido nucleico pode incluir DNA, RNA, ou combinações dos mesmos. Em algumas modalidades, o polímero de ácido nucleico pode ser um oligonucleotídeo e/ou um polinucleotídeo. Em algumas modalidades,

dades, o polímero de ácido nucleico pode ser um oligonucleotídeo e/ou um oligonucleotídeo modificado; um oligonucleotídeo antissetido e/ou um oligonucleotídeo antissetido modificado; um cDNA; um DNA genômico; DNA e/ou RNA viral; quimeras de DNA e/ou RNA; plasmídios; cosmídeos; fragmentos de gene; um cromossoma artificial e/ou natural (por exemplo um cromossoma artificial de levedura) e/ou uma parte do mesmo, um RNA (por exemplo um mRNA, um tRNA, um rRNA e/ou uma ribozima); um ácido nucleico peptídico (PNA); um polinucleotídeo compreendendo análogos sintéticos de ácidos nucleicos, que podem ser modificados ou não-modificados, várias formas estruturais de DNA incluindo DNA de cordão simples, DNA de cordão duplo, DNA superespiralado e/ou DNA de hélice tripla; Z-DNA; e/ou combinações dos mesmos.

Em algumas modalidades, o componente hidrofílico de uma entidade anfifílica pode compreender ou consistir em um carboidrato. Em algumas modalidades, o carboidrato pode ser um polissacarídeo composto de açúcares simples (ou seus derivados) conectados por ligações glicosídicas, como conhecido na técnica. Tais açúcares podem incluir, porém sem limitação, glicose, frutose, galactose, ribose, lactose, sacarose, maltose, trehalose, celbiose, manose, xilose, arabinose, ácido glicurônico, ácido galacturônico, ácido manurônico, glicosamina, galatosamina, e ácido neurâmico. Em algumas modalidades, o polímero pode ser um carboidrato hidrofílico, incluindo polissacarídeos aminados, carboxilados, e sulfatados. Em algumas modalidades, o carboidrato hidrofílico pode ser um ou mais de pululan, celulose, celulose microcristalina, hidroxipropil metilcelulose, hidroxicelulose, metilcelulose, dextrana, ciclodextrana, glicogênio, amido, hidroxietilamido, carragenina, glicônio, amilose, quitosano, N,O-carboxilmetylquitosano, algina e ácido algínico, amido, quitina, heparina, konjac, glicomanana, pustulana, heparina, ácido hialurônico, curdlana, e xantano. Em algumas modalidades, os polissacarídeos hidrofílicos podem ser modificados para se tornarem hidrofóbicos por introdução de um grande número de grupos hidrofóbicos de cadeia lateral. Em algumas modalidades, um carboidrato hidrofóbico pode incluir acetato de celulose, acetato de pululan, acetato de konjac, acetato de

amilose, e acetato de dextrana.

Em algumas modalidades, o componente hidrofílico de uma entidade anfifílica pode compreender ou consistir em uma goma incluindo, porém sem limitação, goma de xantano, ácido algínico, goma de carajá, alginate de sódio, e/ou goma de alfarroba.

Em algumas modalidades, um componente de uma entidade anfifílica pode compreender ou consistir em uma proteína. Em algumas modalidades, uma proteína é um componente hidrofílico de uma entidade anfifílica. Em outras modalidades, uma proteína é um componente hidrofóbico de uma entidade anfifílica. Proteínas exemplificativas que podem ser usadas de acordo com a presente invenção incluem, porém sem limitação, albumina, colágeno, ou um poli(aminoácido) (por exemplo polilisina).

Em algumas modalidades, o componente hidrofóbico de uma entidade anfifílica pode compreender ou consistir em um ou mais grupos ácido graxo ou sais dos mesmos. Em geral, tais grupos são tipicamente hidrofóbicos e podem conferir natureza hidrofóbica à entidade anfifílica. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode compreender hidrocarbonetos substituídos ou não-substituídos, de cadeia longa (por exemplo, C₈ - C₅₀), digeríveis. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser um C₁₀-C₂₀ ácido graxo ou sal do mesmo. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser um C₁₅-C₂₀ ácido graxo ou sal do mesmo. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser um C₁₅-C₂₅ ácido graxo ou sal do mesmo. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser insaturado. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser monoinsaturado. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser poli-insaturado. Em algumas modalidades, uma ligação dupla de um grupo ácido graxo insaturado pode estar na conformação *cis*. Em algumas modalidades, uma ligação dupla de um grupo ácido graxo insaturado pode estar na conformação *trans*.

Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser um ou mais de ácido butírico, caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, araquídico, beênico, ou lignocérgico. Em algumas modalidades,

o grupo ácido graxo pode ser um ou mais de ácido palmitoleico, oleico, vacênico, linoleico, alfa-linoleico, gama-linoleico, araquidônico, gadoleico, araquidônico, eicosapentaenoico, docosa-hexaenoico, ou erúrico.

Em algumas modalidades, o componente hidrofóbico de uma entidade anfifílica pode compreender ou consistir em um ou mais polímeros sintéticos biocompatíveis e/ou biodegradáveis, incluindo, por exemplo, polietilenos, policarbonatos (por exemplo poli(1,3-dioxan-2-ona)), polianidridos (por exemplo poli(anidrido sebácico)), poli-hidroxiácidos (por exemplo poli(β -hidroxialcanoato)), polipropilfumeratos, policaprolactonas, poliamidas (por exemplo policaprolactama), poliacetais, poliéteres, poliésteres (por exemplo polilactídeo e poliglicolídeo), policianoacrilatos biodegradáveis, álcoois polivinílicos, e poliuretanos biodegradáveis. Por exemplo, a entidade anfifílica pode compreender um ou mais dos seguintes polímeros biodegradáveis: poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico, poli(caprolactona), poli(lactídeo-co-glicolídeo), poli(lactídeo-co-caprolactona), poli(lactídeo-co-caprolactona), e poli(DL- lactídeo-co-glicolídeo).

Em algumas modalidades, o componente hidrofóbico de uma entidade anfifílica pode compreender ou consistir em um ou mais polímeros acrílicos. Em certas modalidades, polímeros acrílicos incluem, por exemplo, copolímeros de ácido acrílico e ácido metacrílico, copolímeros metacrilato de metila, metacrilatos de etoxietila, metacrilato de cianoetila, copolímero de metacrilato de aminoalquila, poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímero de alquilamida de ácido metacrílico, poli(metacrilato de metila), poli(anidrido de ácido metacrílico), metacrilato de metila, polimetacrilato, copolímero de poli(metacrilato de metila), poliacrilamida, copolímero de metacrilato de aminoalquila, copolímeros de metacrilato de glicidila, e combinações compreendendo um ou mais dos polímeros acima. O polímero acrílico pode compreender copolímeros completamente polimerizados de ésteres de ácido acrílico e metacrílico com um baixo teor de grupos amônio quaternário.

Em algumas modalidades, o componente hidrofóbico de uma entidade anfifílica pode compreender ou consistir em um poliéster. Exemplos de tais poliésteres incluem, por exemplo, polialquíleno glicóis, po-

li(glicolídeo-co-lactídeo), poli(ácido láctico-co-glicólico) PEGuilado, poli(ácido láctico), poli(ácido láctico) PEGuilado, poli(ácido glicólico), poli(ácido glicólico) PEGuilado, copolímeros de ácido polilático e poliglicólico, e derivados dos mesmos. Em algumas modalidades, poliésteres incluem, por exemplo, polianidridos, poli(orto éster), poli(orto éster) PEGuilado, poli(caprolactona), poli(caprolactona) PEGuilada, polilisina, polilisina PEGuilada, poli(etileno imina), poli(etileno imina) PEGuilada, e derivados dos mesmos. Em algumas modalidades, poliésteres podem incluir, por exemplo, policaprolactona, poli(L-lactídeo-co-L-lisina), poli(serina éster), poli(4-hidróxi-L-prolina éster), poli[ácido α -(4- aminobutil)-L-glicólico], e derivados dos mesmos.

Em algumas modalidades, as entidades anfifílicas podem ter atividade biológica.

Os versados na técnica vão perceber que esta é uma lista exemplificativa, não abrangente, de entidades anfifílicas. O percentual de entidade anfifílica na composição a partir da qual nanopartículas de AE são preparadas (por exemplo, em uma pré-mistura) pode variar de 40% a 99%, de 50% a 99%, de 60% a 99%, de 70% a 99%, de 80% a 99%, de 80% a 90%, ou de 90% a 99%. Em algumas modalidades o percentual de entidade anfifílica na composição a partir da qual nanopartículas de AE são preparadas (por exemplo, em uma pré-mistura) é aproximadamente 75%, aproximadamente 76%, aproximadamente 77%, aproximadamente 78%, aproximadamente 79%, aproximadamente 80%, aproximadamente 81%, aproximadamente 82%, aproximadamente 83%, aproximadamente 84%, aproximadamente 85%, aproximadamente 86%, aproximadamente 87%, aproximadamente 88%, aproximadamente 89%, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, ou aproximadamente 99%.

Meios de dispersão

Em geral, espera-se que a pré-mistura contenha pelo menos um meio de dispersão. Em algumas modalidades, a pré-mistura pode conter um meio de dispersão hidrofílico. Em algumas modalidades, a pré-mistura pode

conter um meio de dispersão hidrofóbico. Em algumas modalidades, a pré-mistura pode conter uma combinação de dois ou mais meios de dispersão, por exemplo de caráteres diferentes. Em algumas modalidades, a pré-mistura pode conter pelo menos dois meios de dispersão imiscíveis.

5 Será observado que a escolha do meio de dispersão apropriado vai depender, pelo menos em parte, da natureza das entidades anfifílicas sendo empregadas e se ela é destinada ao caráter externo e interno desejado das nanopartículas desejadas. Por exemplo, em algumas modalidades, as nanopartículas terão caráter externo hidrofílico e caráter interno hidrofóbico; em algumas modalidades, as nanopartículas terão caráter externo hidrofóbico e caráter hidrofílico; em algumas modalidades, as nanopartículas terão caráter externo e interno hidrofílico; e em algumas modalidades, as nanopartículas terão caráter externo e interno hidrofóbico. Será observado pelos versados na técnica que os mesmos componentes das nanopartículas 10 podem às vezes se juntar formando estruturas de nanopartículas diferentes, com caráteres interno e externo diferentes. Para dar apenas um exemplo, nanopartículas formadas de uma monocamada de um composto anfifílico individual terão caráteres externo e interno diferentes, ao passo que nanopartículas formadas de uma bicamada do mesmo composto terão o mesmo 15 caráter externo e interno.

20

Em algumas modalidades da invenção, são utilizados meios de dispersão hidrofílicos. Em algumas modalidades, estes meios de dispersão hidrofílicos são aquosos. Tais meios de dispersão aquosos incluem, porém sem limitação, água, álcoois de cadeia curta (por exemplo etanol), óleos, 25 dextrose a 5%, soluções de Ringer (por exemplo injeção de Ringer lactada, injeção de Ringer lactada mais dextrose a 5%, injeção de Ringer acetilada), Normosol-M, Isolyte E, sulfóxido de dimetila (DMSO), dimetil acetamida, dimetil formamida, clorofórmio, tetrametil formamida, tetracloreto de carbono, N-metil pirrolidona, ou dicloroetano, entre outros, e combinações dos mesmos. 30

Em algumas modalidades da invenção, são utilizados meios de dispersão hidrofóbicos. Em algumas modalidades, estes meios de dispersão

hidrofóbicos são óleos. Em geral, qualquer óleo conhecido na literatura é adequado para fazer as nanopartículas de AE da invenção. Em algumas modalidades, o óleo pode compreender um ou mais grupos ácido graxo ou sais dos mesmos. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode

5 compreender hidrocarbonetos substituídos ou não-substituídos, de cadeia longa (por exemplo, C₈ - C₅₀), digeríveis. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser um C₁₀-C₂₀ ácido graxo ou sal do mesmo. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser um C₁₅-C₂₀ ácido graxo ou sal do mesmo. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser um C₁₅-

10 C₂₅ ácido graxo ou sal do mesmo. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser insaturado. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser monoinsaturado. Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser poli-insaturado. Em algumas modalidades, uma ligação dupla de um grupo ácido graxo insaturado pode estar na conformação *cis*. Em algu-

15 mas modalidades, uma ligação dupla de um grupo ácido graxo insaturado pode estar na conformação *trans*.

Em algumas modalidades, o grupo ácido graxo pode ser um ou mais de ácido butírico, caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, araquídico, beênico, ou lignocérico. Em algumas modalidades,

20 o grupo ácido graxo pode ser pode ser um ou mais de ácido palmitoleico, oleico, vacênico, linoleico, alfa-linoleico, gama-linoleico, araquidônico, gadoleico, araquidônico, eicosapentaenoico, docosa-hexaenoico, ou erúrico.

Em algumas modalidades, o óleo é um triglicerídeo líquido. Em certas modalidades, o óleo é um triglicerídeo de cadeia média (por exemplo,

25 6 - 12 carbonos) (por exemplo, Labrafac WL 1349, óleo de coco, óleo de caroço de palma, óleo de drupa de canforeira etc.). Em certas modalidades, o óleo é um triglicerídeo de cadeia curta (por exemplo, 2 - 5 carbonos). Em certas modalidades, o óleo é um triglicerídeo de cadeia longa (por exemplo,

mais de 12 carbonos) (por exemplo, óleo de soja, óleo de girassol etc.).

30 Óleos adequados para uso na presente invenção incluem, porém sem limitação, óleos de amêndoas, caroço de damasco, abacate, babaçu, bergamota, semente de groselha-preta, borragem, cade, camomila, ca-

nola, cominho-armênio, carnaúba, rícino, canela, manteiga de cacau, coco, fígado de bacalhau, café, milho, semente de algodão, emu, eucalipto, enotera, peixe, semente de linhaça, geraniol, abóbora, semente de uva, avelã, hissopo, jojoba, noz kukui, lavandina, lavanda, limão, litsea cubeba, macadâmia, malva, caroço de manga, Limnanthes ("meadowfoam seed"), mamíferos mustelídeos ("mmk"), noz-moscada, oliva, laranja, Hoplostethus atlanticus ("orange roughy"), palma, caroço de palma, caroço de pêssego, amendoim, semente de papoula, semente de abóbora, semente de colza, farelo de arroz, alecrim, açafrão, sândalo, sasquana, segurelha, sanguinheiro do mar, gergelim, manteiga de carité, silicone, soja, girassol, chá-da-índia, cardo, tsubaki, vetiver, avelã, e gérmens de trigo, e combinações dos mesmos. Óleos adequados para uso na presente invenção incluem, porém sem limitação, estearato de butila, triglicerídeo caprílico, triglicerídeo cáprico, ciclometicona, sebacato de dietilaa, dimeticona 360, miristato de isopropila, óleo mineral, octildodecanol, álcool oleílico, óleo de silicone, e combinações dos mesmos.

Os versados na técnica vão perceber que o termo "meio de dispersão" não pretende sugerir que uma quantidade particular do material esteja presente. Por exemplo, particularmente em um sistema que utiliza dois ou mais meios de dispersão (por exemplo, com caráter hidrofóbico/hidrofílico diferente), as quantidades relativas dos diferentes meios de dispersão podem ser ajustadas conforme desejado. Por exemplo, o percentual de meio de dispersão na composição da qual as nanopartículas de AE são preparadas (por exemplo, em uma pré-mistura) pode variar de 0% a 99%, de 10% a 99%, de 25% a 99%, de 50% a 99%, ou de 75% a 99%. Em algumas modalidades, o percentual de meio de dispersão na composição da qual as nanopartículas de AE são preparadas (por exemplo, em uma pré-mistura) pode variar de 0% a 75%, de 0% a 50%, de 0% a 25%, ou de 0% a 10%.

Em algumas modalidades, o percentual de óleo na composição da qual as nanopartículas de AE são preparadas (por exemplo, em uma pré-mistura) varia entre 0% e 30%. Em algumas modalidades o percentual de óleo na composição da qual as nanopartículas de AE são preparadas (por

exemplo, em uma pré-mistura) é aproximadamente 1%, aproximadamente 2%, aproximadamente 3%, aproximadamente 4%, aproximadamente 5%, aproximadamente 6%, aproximadamente 7%, aproximadamente 9%, aproximadamente 10%, aproximadamente 11%, aproximadamente 12%, aproximadamente 13%, aproximadamente 14%, aproximadamente 15%, aproximadamente 16%, aproximadamente 17%, aproximadamente 18%, aproximadamente 19%, aproximadamente 20%, aproximadamente 21%, aproximadamente 22%, aproximadamente 23%, aproximadamente 24%, aproximadamente 25%, aproximadamente 26%, aproximadamente 27%, aproximadamente 28%, aproximadamente 29%, ou aproximadamente 30%. Em algumas modalidades o percentual de óleo é aproximadamente 8%. Em algumas modalidades o percentual de óleo é aproximadamente 5%.

Em algumas modalidades, a pré-mistura compreende óleo e tensoativo em uma proporção variando entre 0,5:1 e 10:1. Em algumas modalidades, a proporção de óleo para tensoativo é aproximadamente 0,5:1, aproximadamente 1 :1, aproximadamente 2:1, aproximadamente 3:1, aproximadamente 4:1, aproximadamente 5:1, aproximadamente 6:1, aproximadamente 7:1, aproximadamente 8:1, aproximadamente 9 : 1 , ou aproximadamente 10:1. Em algumas modalidades, a proporção de tensoativo para óleo é aproximadamente 0,5:1, aproximadamente 1 :1, aproximadamente 2:1, aproximadamente 3:1, aproximadamente 4:1, aproximadamente 5:1, aproximadamente 6:1, aproximadamente 7:1, aproximadamente 8:1, aproximadamente 9:1, ou aproximadamente 10:1. Em algumas modalidades, a pré-mistura compreende óleo e tensoativo em uma proporção variando entre 0,5 : 1 e 2:1. Em algumas modalidades, a proporção de óleo para tensoativo é aproximadamente 0,5 : 1 , aproximadamente 1 : 1 , ou aproximadamente 2:1. Em algumas modalidades, a proporção de tensoativo para óleo é aproximadamente 0,5:1, aproximadamente 1 :1, ou aproximadamente 2:1. Em certas modalidades, a proporção de óleo para tensoativo é aproximadamente 1 :1.

Os versados na técnica vão perceber que a descrição acima apresenta algumas listas exemplificativas, não abrangentes, de meios de dispersão possíveis para uso de acordo com a presente invenção. Qualquer

meio de dispersão apropriado pode ser usado na produção de nanopartículas de AE.

Tensoativos

- Em algumas modalidades, a pré-mistura pode opcionalmente compreender uma ou mais substâncias com atividade tensoativa. Em algumas modalidades, uma substância com atividade tensoativa pode promover a produção nanopartículas de AE com estabilidade aumentada, uniformidade melhorada, ou viscosidade aumentada. Tensoativos podem ser particularmente úteis nas modalidades que utilizam dois ou mais meios de dispersão.
- O percentual de substâncias com atividade tensoativa na composição da qual as nanopartículas de AE são preparadas (por exemplo, em uma pré-mistura) pode variar de 0% a 99%, de 10% a 99%, de 25% a 99%, de 50% a 99%, ou de 75% a 99%. Em algumas modalidades, o percentual de substâncias com atividade tensoativa na composição da qual as nanopartículas de AE são preparadas (por exemplo, em uma pré-mistura) pode variar de 0% a 75%, de 0% a 50%, de 0% a 25%, ou de 0% a 10%.

Em algumas modalidades, o percentual de substâncias com atividade tensoativa na composição da qual as nanopartículas de AE são preparadas (por exemplo, em uma pré-mistura) varia entre 0% e 30%. Em algumas modalidades o percentual de substâncias com atividade tensoativa na composição da qual as nanopartículas de AE são preparadas (por exemplo, em uma pré-mistura) é aproximadamente 1%, aproximadamente 2%, aproximadamente 3%, aproximadamente 4%, aproximadamente 5%, aproximadamente 6%, aproximadamente 7%, aproximadamente 9%, aproximadamente 10%, aproximadamente 11%, aproximadamente 12%, aproximadamente 13%, aproximadamente 14%, aproximadamente 15%, aproximadamente 16%, aproximadamente 17%, aproximadamente 18%, aproximadamente 19%, aproximadamente 20%, aproximadamente 21%, aproximadamente 22%, aproximadamente 23%, aproximadamente 24%, aproximadamente 25%, aproximadamente 26%, aproximadamente 27%, aproximadamente 28%, aproximadamente 29%, ou aproximadamente 30%. Em algumas modalidades o percentual de substâncias com atividade tensoativa é

aproximadamente 8%. Em algumas modalidades o percentual de substâncias com atividade tensoativa é aproximadamente 5%.

Qualquer substância com atividade tensoativa conhecida na literatura é adequada para uso na produção das nanopartículas de AE da invenção. Tais tensoativos incluem, porém sem limitação, fosfoglicerídeos; fosfatidilcolinas, dipalmitoil fosfatidilcolina (DPPC); dioleilfosfatidil etanolamina (DOPE); dioleioxipropiltriethylamônio (DOTMA); dioleoifosfatidilcolina; colesterol; éster de colesterol; diacilglicerol; succinato de diacilglicerol; difosfatidil glicerol (DPPG); hexanodecanol; álcoois graxos tais como polietileno glicol (PEG); polioxietileno-9-lauril éter; um ácido graxo tensoativo, tal como ácido palmítico ou ácido oleico; ácidos graxos; monoglicerídeos de ácidos graxos; diglicerídeos de ácidos graxos; amidas de ácidos graxos; glicocolato de trioleato de sorbitan (Span 85); monolaurato de sorbitan (Span 20); polissorbato 20 (Tween-20); polissorbato 60 (Tween-60); polissorbato 65 (Tween-65); polissorbato 80 (Tween-80); polissorbato 85 (Tween-85); monoestearato de polioxietileno; surfactina; um poloxômero; um éster de ácido graxo de sorbitan tal como trioletato de sorbitan; lecitina; lisolecitina; fosfatidilserina; fosfatidilinositol; esfingomielina; fosfatidiletanolamina (cefalina); cardiolipina; ácido fosfatídico; cerebrosídeos; fosfato de dicetila; dipalmitoilfosfatidilglicerol; estearilamina; dodecilamina; hexadecila-amina; palmitato de acetila; ricinoleato de glicerol; esterato de hexadecila; miristato de isopropila; tiloxapol; poli(etileno glicol)5000- fosfatidiletanolamina; monostearato de poli(etileno glicol)400; fosfolipídios; detergentes sintéticos e/ou naturais tendo altas propriedades tensoativas; desoxicolatos; ciclodextrinas; sais caotrópicos; agentes de pareamento de íons; e combinações dos mesmos. O componente tensoativo pode ser uma mistura de tensoativos diferentes. Esses tensoativos podem ser extraídos e purificados de uma fonte natural ou podem ser preparados sinteticamente em um laboratório. Em uma modalidade preferida, os tensoativos encontram-se comercialmente disponíveis.

Os versados na técnica vão perceber que esta é uma lista exemplificativa, não abrangente, de substâncias com atividade tensoativa. Qualquer tensoativo pode ser usado na produção de nanopartículas de AE.

Agentes Biologicamente Ativos

As composições de nanopartículas da invenção de AE podem ser utilizadas para distribuir ou mais agentes biologicamente ativos. Portanto, agentes biologicamente ativos podem ser distribuídos em conjunto com 5 as nanopartículas de AE da invenção. Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo é incluído em uma pré-mistura. Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo é adicionado depois da formação das nanopartículas de AE.

Quaisquer agentes biologicamente ativos, incluindo, por exemplo, 10 agentes terapêuticos, diagnósticos, profiláticos, nutricionais, cosméticos, e/ou dermatológicos, pode ser distribuído de acordo com a presente invenção. Tais agentes biologicamente ativos podem ser moléculas pequenas, compostos organometálicos, ácidos nucleicos, proteínas (incluindo proteínas multiméricas, complexos proteicos etc.), peptídios, lipídios, carboidratos, er- 15 vas, hormônios, metais, elementos e compostos radioativos, fármacos, vacinas, agentes imunológicos etc., e/ou combinações dos mesmos. Tais agentes biologicamente ativos podem ser encapsulados, adsorvidos na superfície, e/ou presentes na membrana micelar das nanopartículas de AE da invenção.

Em algumas modalidades, o percentual de agente biologicamente ativo em uma pré-mistura ou nas nanopartículas varia de 0,1% a 25%. Em algumas modalidades, o percentual de agente biologicamente ativo em uma pré-mistura ou nas nanopartículas varia de 0,1% a 20%, de 0,1% a 15%, de 0,1% a 10%, de 0,1% a 5%, ou de 0,1% a 1%. Em algumas modalidades, o 25 percentual de agente biologicamente ativo em uma pré-mistura ou nas nanopartículas varia de 1% a 20%, de 5% a 20%, de 10% a 20%, de 15% a 20%, ou de 15% a 25%. Em algumas modalidades, o percentual de agente biologicamente ativo em uma pré-mistura ou nas nanopartículas é menor que 0,1%. Em algumas modalidades, o percentual de agente biologicamente 30 ativo em uma pré-mistura ou nas nanopartículas é maior que 25%. Em algumas modalidades, o percentual de agente biologicamente ativo em uma pré-mistura ou nas nanopartículas é aproximadamente 0,1%, aproximada-

mente 1%, aproximadamente 2%, aproximadamente 3%, aproximadamente 4%, aproximadamente 5%, aproximadamente 6%, aproximadamente 7%, aproximadamente 8%, aproximadamente 9%, aproximadamente 10%, aproximadamente 11%, aproximadamente 12%, aproximadamente 13%, aproximadamente 14%, aproximadamente 15%, aproximadamente 16%, aproximadamente 17%, aproximadamente 18%, aproximadamente 19%, aproximadamente 20%, aproximadamente 21%, aproximadamente 22%, aproximadamente 23%, aproximadamente 24%, aproximadamente 25%, ou mais.

Agentes biologicamente ativos relevantes podem ser produzidos ou obtidos de acordo com qualquer método ou abordagem disponível. Os agentes biologicamente ativos podem conter, ou ser modificados para conter, uma ou mais porções destinadas a facilitar seu uso ou distribuição em conjunto com as nanopartículas da invenção. Tal modificação não deve interferir na atividade biológica do agente. Em algumas modalidades, a modificação pode ser opcionalmente removido *in vivo*. Por exemplo, agentes biologicamente ativos podem ser marcados de forma detectável e/ou podem ser apresentados em uma forma "pró" que é convertida ou modificada em uma forma ativa depois da distribuição.

Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo é uma molécula pequena e/ou um composto orgânico com atividade farmacêutica. Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo é um fármaco clinicamente usado. Em algumas modalidades, a fármaco é um antibiótico, agente antiviral, anestésico, anticoagulante, agente anticâncer, inibidor de uma enzima, agente esteroide, agente anti-inflamatório, agente antineoplásico, antígeno, vacina, anticorpo, descongestionante, anti-hipertensivo, sedativo, agente anticoncepcional, agente progestacional, anticolinérgico, analgésico, antidepressivo, antipsicótico, agente bloqueador β -adrenérgico, diurético, agente ativo cardiovascular, agente vasoativo, agente anti-inflamatório não-esteróide etc.

Os agentes biologicamente ativos distribuídos podem ser uma mistura de agentes farmaceuticamente ativos. Por exemplo, um anestésico local pode ser distribuído em combinação com um agente anti-inflamatório

tal como um esteroide. Anestésicos locais também podem ser administrados com agentes vasoativos tais como epinefrina. Para apenas mais um exemplo, um antibiótico pode ser combinado com um inibidor da enzima comumente produzida por bactérias para inativar o antibiótico (por exemplo, penicilina e ácido clavulínico).

Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo é um agente diagnóstico. Em algumas modalidades, agentes diagnósticos incluem gases; agentes de imagem comercialmente disponíveis usados em tomografia por emissão de positrons (PET), tomografia computadorizada (CAT), tomografia computadorizada por emissão de fóton único, raios X, fluoroscopia, e imagem por ressonância magnética (MRI); e agentes de contraste. Exemplos de materiais adequados para uso como agentes de contraste em MRI incluem quelatos de gadolínio, assim como ferro, magnésio, manganês, cobre, e cromo. Exemplos de materiais úteis para imagem por CAT e raios X incluem materiais à base de iodo.

Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo é um agente profilático. Em algumas modalidades, agentes profiláticos incluem vacinas. Vacinas podem compreender proteínas ou peptídios isolados, organismos e vírus inativados, organismos e vírus mortos, organismos ou vírus geneticamente alterados, e extratos celulares. Agentes profiláticos podem ser combinados com interleucinas, interferon, citocinas, e adjuvantes tais como toxina da cólera, alume, adjuvante de Freund etc. Agentes profiláticos podem incluir antígenos de organismos bacterianos tais como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus anthracis*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Bordetella pertussis*, *Francisella tularensis*, *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Treponema pallidum*, *Leptospirosis interrogans*, *Borrelia burgdorferi*, *Camphylobacter jejuni*, entre outros; antígenos de vírus tais como varíolo,

influenza A e B, vírus sincicial respiratório, parainfluenza, sarampo, HIV, varicela-zóster, herpes simples 1 e 2, citomegalovírus, vírus de Epstein-Barr, rotavírus, rinovírus, adenovírus, papilomavírus, poliovírus, caxumba, raiva, rubéola, vírus Coxsackie, encefalite equina, encefalite japonesa, febre amarela, febre do Vale Rift, vírus da hepatite A, B, C, D, e E, entre outros; antígenos de organismos fúngicos, protozoários, e parasitas tais como *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Nocardia asteroides*, *Rickettsia ricketsii*, *Rickettsia typhi*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydial psittaci*, *Chlamydial trachomatis*, *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei*, *Entamoeba histolytica*, *Toxoplasma gondii*, *Trichomonas vaginalis*, *Schistosoma mansoni*, entre outros. Estes antígenos podem estar na forma de organismos mortos totais, peptídios, proteínas, glicoproteínas, carboidratos, ou combinações dos mesmos.

Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo pode ser uma proteína. Conforme usado neste relatório, os termos "proteína" e "peptídio" podem ser usados alternadamente. Em certas modalidades, os peptídios variam de cerca de 5 a 40, 10 a 35, 15 a 30, ou 20 a 25 aminoácidos de tamanho. Peptídios de grupos de peptídios compreendendo sequências aleatórias e/ou sequências que foram variadas de forma consistente para oferecer um grupo bastante diversificado podem ser usados.

Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo pode ser um aminoácido. Em algumas modalidades, anticorpos podem incluir, porém sem limitação, anticorpos policlonais, monoclonais, quiméricos (isto é, "humanizados"), e de cadeia simples (recombinante). Em algumas modalidades, os anticorpos podem ter funções efetoras reduzidas e/ou moléculas biespecíficas. Em algumas modalidades, anticorpos podem incluir fragmentos Fab e/ou fragmentos produzidos por uma biblioteca de expressão de Fab.

Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo pode ser um ácido nucleico. Em algumas modalidades, os oligonucleotídeos compreendem DNA, RNA, misturas químéricas, derivados, porções características, e/ou versões modificadas dos mesmos. Os oligonucleotídeos da pre-

sente invenção podem ser de cordão simples e/ou de cordão duplo. O oligonucleotídeo pode ser modificado na porção de base, na porção de açúcar, e/ou no esqueleto de fosfato, por exemplo, para melhorar a estabilidade da molécula, hibridização etc.

5 Em modalidades específicas, um ácido nucleico compreende uma molécula antissentido que se liga a um sítio de início de translação, um sítio de início de transcrição, e/ou junções de emenda. Os oligonucleotídeos antissentido vão se ligar a um mRNA alvo e/ou prevenir a translação. Alternativamente ou adicionalmente, o oligonucleotídeo antissentido pode ser
10 ligar ao DNA de um gene alvo, tal como, por exemplo, um elemento regulador.

Em algumas modalidades, um ácido nucleico que compreende uma ribozima criada para clivar cataliticamente transcritos de mRNA alvo podem ser usados para prevenir a tradução de um mRNA alvo e/ou a expressão de um alvo (vide, por exemplo, publicação PCT WO 90/11364; e Sarver et al., 1990, Science 247:1222; ambos aqui incorporados a título de referência).

Alternativamente ou adicionalmente, a expressão de gene alvo endógeno pode ser reduzida através da vetorização de sequências de desoxirribonucleotídeo complementares para a região reguladora do gene alvo (isto é, o promotor e/ou aumentadores do gene alvo) para formar estruturas de hélice tripla que previnem a transcrição do gene alvo em células musculares alvo no corpo (vide, de modo geral, Helene, 1991, Anticancer Drug Des. 6:569; Helene et al., 1992, Ann. N.Y. Acad. Sci. 660:27; e Maher, 1992, Bioassays 14:807; ambos aqui incorporados a título de referência).

Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo é um agente nutracêutico. Em algumas modalidades, o agente nutracêutico fornece valor nutricional básico. Em algumas modalidades, o agente nutracêutico fornece benefícios sanitários ou médicos. Em algumas modalidades, o agente nutracêutico é um suplemento dietético.

Em algumas modalidades, o agente nutracêutico é uma vitamina. Em algumas modalidades, a vitamina é uma ou mais de vitamina A (reti-

noides), vitamina B1 (tiamina), vitamina B2 (riboflavina), vitamina B3 (niacina), vitamina B5 (ácido pantotênico), vitamina B6 (piroxidona), vitamina B7 (biotina), vitamina B9 (ácido fólico), vitamina B 12 (cianocobalamina), vitamina C (ácido ascórbico), vitamina D, vitamina E, ou vitamina K.

5 Em algumas modalidades, o agente nutracêutico é um mineral. Em algumas modalidades, o mineral é um ou mais de bismuto, boro, cálcio, cloro, cromo, cobalto, cobre, flúor, iodo, ferro, magnésio, manganês, molibdênio, níquel, fósforo, potássio, rubídio, selênio, silício, sódio, estrôncio, enxofre, telúrio, titânio, tungstênio, vanádio, ou zinco.

10 Em algumas modalidades, o agente nutracêutico é um aminoácido essencial. Em algumas modalidades, o aminoácido é um ou mais de arginina, glutamina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, ou valina.

15 Em algumas modalidades, os agentes nutracêuticos podem incluir ácidos graxos e/ou ácidos graxos ômega-3 (por exemplo DHA ou ARA), extratos de frutas e extratos vegetais, luteína, fosfatidilserina, ácido lipoide, melatonina, glicosamina, condroitina, aloe vera, gugul, chá verde licopeno, alimentos integrais, aditivos alimentares, ervas, fitonutrientes, antioxidantes, constituintes flavonoides de frutas, óleo de enotera, semente de linhaça, óleos de peixe e animais marinhos (óleo de fígado de bacalhau), e probióticos. Em algumas modalidades, os agentes nutracêuticos podem incluir alimentos geneticamente construídos para ter uma propriedade desejada (também conhecidos como "farmalimentos").

20 Agentes nutracêuticos e suplementos dietéticos exemplares estão descritos, por exemplo, em Roberts et al., (*Nutraceuticals: The Complete Encyclopedia of Supplements, Herbs, Vitamins, and Healing Foods*, American Nutriceutical Association, 2001; aqui incorporado a título de referência). Agentes nutracêuticos e suplementos dietéticos também estão descritos em *Physicians' Desk Reference for Nutritional Supplements*, 1st Ed., 2001 e 30 *Physicians' Desk Reference for Herbal Medicines*, 1st Ed., 2001 (aqui incorporados a título de referência).

Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE carregadas

com agentes nutracêuticos podem ser incorporadas em substâncias alimentares. Por exemplo, as nanopartículas de AE carregadas com nutracêuticos podem ser dissolvidos em líquidos, tais como bebidas.

Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo é um agente cosmético e/ou dermatológico. Em algumas modalidades, o agente cosmético e/ou dermatológico pode opcionalmente incluir excipientes tais como agentes sequestrantes, amaciante, materiais colorantes (por exemplo pigmentos e corantes), e fragrâncias. Em algumas modalidades, o agente cosmético e/ou dermatológico pode ser uma composição incluindo, porém sem limitação, amaciante de pele, loção nutritiva, loção de limpeza, creme de limpeza, leite para pele, loção emoliente, creme de massagem, creme emoliente, base para maquilagem, batom, lenço facial ou gel facial, formulação para limpeza (por exemplo xampus, enxagues, limpador corporal, tônico capilar, e sabonetes), e composição dermatológica (por exemplo loções, pomadas, géis, cremes, emplastos e sprays).

Em algumas modalidades, o agente cosmético e/ou dermatológico pode incluir vitaminas e seus derivados (por exemplo vitamina E e seu ésteres, vitamina C e seu ésteres, vitaminas B, álcool de vitamina A ou retinol e seu ésteres), provitaminas (por exemplo pantenol, niacinamida ou ergocalciferol), antioxidantes, compostos fenólicos (por exemplo peróxido de benzoíla), óleos essenciais, umectantes, filtros solares, agentes umidificantes, proteínas, ceramidas, e pseudoceramidas.

Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo pode ser um ou mais peptídios da toxina botulínica ou complexos proteicos. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser um ou mais dos sorotipos A, B, C₁, C₂, D, E, F, ou G da toxina botulínica. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser uma toxina botulínica isolada e/ou purificada. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser uma toxina botulínica parcialmente isolada e/ou parcialmente purificada. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser um complexo botulínico nativo. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode estar associada a proteínas não-toxínicas. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser toxina bo-

tulínica feita de forma recombinante.

Os versados na técnica vão perceber que esta é uma lista exemplificativa, não abrangente, de agentes biologicamente ativos. Qualquer agente biologicamente ativo pode ser encapsulado na superfície de nanopartículas de AE ou ligado à mesma.

Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE compreendendo um agente biologicamente ativo pode opcionalmente incluir um ou mais componentes retardadores da liberação para permitir a liberação controlada do agente. Qualquer componente retardador de liberação conhecido na técnica é adequado para uso para produzir as nanopartículas de AE da invenção. Em algumas modalidades, componentes retardadores da liberação são polímeros hidrofílicos e/ou hidrofóbicos. Componentes retardadores da liberação incluem, por exemplo celuloses ou derivados das mesmas, polímeros acrílicos, polímeros de ésteres, polímeros à base de vinilpirrolidona, gomas, outros polímeros naturais, e/ou combinações destes.

Em algumas modalidades, o componente retardador de liberação é celulose ou um derivado da mesma. Em certas modalidades, a celulose ou derivado da mesma compreende um ou mais de hidroxipropil metilcelulose, metilcelulose, carboximetilcelulose, carboximetilcelulose sódica, hidroxipropil etilcelulose, hidroxietilcelulose, e hidroxipropil celulose. Em certas modalidades, a celulose ou derivado da mesma é metilcelulose ou um derivado da mesma. Em certas modalidades, a celulose ou derivado da mesma é hidroxipropil metilcelulose (HPMC). Os versados na técnica vão perceber que outros polímeros celulósicos, incluindo outros polímeros alquil celulósicos, podem ser usados.

Em algumas modalidades, o componente retardador de liberação é um polímero acrílico. Em certas modalidades, polímeros acrílicos incluem, por exemplo, copolímeros de ácido acrílico e ácido metacrílico, copolímeros metacrilato de metila, metacrilatos de etoxietila, metacrilato de cianoetila, copolímero de metacrilato de aminoalquila, poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímero de alquilamida de ácido metacrílico, poli(metacrilato de metila), poli(anidrido de ácido metacrílico), metacrilato de

- metila, polimetacrilato, copolímero de poli(metacrilato de metila), poliacrilmida, copolímero de metacrilato de aminoalquila, copolímeros de metacrilato de glicidila, e combinações compreendendo um ou mais dos polímeros precedentes. O polímero acrílico pode compreender copolímeros completamente polimerizados de ésters de ácidos acrílicos e metacrílicos com um baixo teor de grupos amônio quaternário.

Em algumas modalidades, o componente retardador de liberação é um poliéster. Em algumas modalidades, poliésteres incluem polialquilenoglicóis, poli(glicolídeo-co-lactídeo), poli(ácido lático-co-glicólico) PEGuiado, poli(ácido lático), poli(ácido lático) PEGuiado, poli(ácido glicólico), poli(ácido glicólico) PEGuiado, copolímeros de ácido polilático e poliglicólico, e derivados dos mesmos. Em algumas modalidades, poliésteres incluem, por exemplo, polianidridos, poli(orto éster), poli(orto éster) PEGuiado, poli(caprolactona), poli(caprolactona) PEGuiada, polilisina, polilisina PEGuiada, poli(etileno imina), poli(etileno imina) PEGuiada, e derivados dos mesmos. Em algumas modalidades, poliésteres podem incluir, por exemplo, poli-caprolactona, poli(L-lactídeo-co-L-lisina), poli(serina éster), poli(4-hidróxi-L-prolina éster), poli[ácido α -(4-aminobutil)-L-glicólico], e derivados dos mesmos.

Em algumas modalidades, o componente retardador de liberação é um polímero reticulado de poli(vinil-pirrolidona). Em algumas modalidades, o polímero é crospovidona. Em algumas modalidades, o polímero é poli(vinil-pirrolidona) não reticulada. Em algumas modalidades, o polímero é povidona.

Em algumas modalidades, o componente retardador de liberação pode ser um polímero natural. Em algumas modalidades, o polímero natural é uma goma, incluindo, por exemplo, goma de xantano, ácido algínico, goma de carajá, alginato de sódio, e/ou goma de alfarroba. Em algumas modalidades, o polímero natural pode ser uma proteína (por exemplo albumina), lipídio, ácido nucleico, ou carboidrato.

Métodos de Produção de Nanopartículas de AE

Em geral, as composições de nanopartículas da invenção (por

exemplo, composições de nanopartículas de botulina) podem ser preparadas por qualquer método disponível. Em algumas modalidades, composições de nanopartículas são preparadas por meios químicos. No entanto, os meios químicos geralmente requerem solventes tóxicos (tipicamente orgânicos);

- 5 em algumas modalidades, as composições de nanopartículas são preparadas de acordo com a presente invenção sem o uso desses solventes.

Em certas modalidades da presente invenção, as composições de nanopartículas são preparadas por preparação de uma pré-mistura e submissão da pré-mistura a forças de alto cisalhamento. Conforme usado 10 neste relatório, o termo "força de cisalhamento" refere-se a uma força que é paralela à face de um material, em oposição a uma força que é perpendicular à face de um material.

Qualquer método conhecido na literatura pode ser usado para gerar forças de alto cisalhamento. De acordo com a presente invenção, o 15 uso de energia mecânica (isto é, forças de alto cisalhamento) pode substituir ou minimizar qualquer necessidade de usar solventes químicos onerosos e/ou tóxicos; pode aumentar a velocidade à qual as nanopartículas se juntam, pode aumentar o rendimento de nanopartículas geradas em uma mistura particular de componentes, e/ou pode reduzir bastante o custo total de 20 preparo de composições de nanopartículas. Além disso, nas modalidades em que um agente tal como um agente biologicamente ativo (por exemplo, toxina botulínica) é incorporado nas composições de nanopartículas da invenção, o uso de força de alto cisalhamento pode aumentar a capacidade de carga da nanopartícula em comparação a métodos tradicionais de formação 25 de nanopartículas. Nos métodos tradicionais, a carga de agentes na ou sobre a superfície das nanopartículas depende tipicamente da difusão do agente para o interior e/ou para a superfície da nanopartícula. De acordo com a presente invenção, o uso de força de alto cisalhamento pode possibilitar a produção de partículas menores (por exemplo, em média) e/ou uma distribuição 30 mais estreita de tamanhos de partícula em uma composição de nanopartículas.

Em algumas modalidades, forças de alto cisalhamento são obti-

das por exposição à pressão alta, por exemplo por fluxo turbulento contínuo à pressão alta, por exemplo cerca de 103,42 MPa (cerca de 15.000 psi). Em algumas modalidades, tal pressão alta está na faixa de cerca de 124,10 a cerca de 179,26 MPa (cerca de 18.000 a cerca de 26.000 psi); em algumas 5 modalidades, ela está na faixa de cerca de 137,89 a 172,37 MPa (cerca de 20.000 a 25.000 psi). Em algumas modalidades, as forças de alto cisalhamento caracterizam-se por pressões de pelo menos 20,68 MPa (3.000 psi), 68,95 MPa (10.000 psi), 103,42 MPa (15.000 psi), 124,10 MPa (18.000 psi), 137,89 MPa (20.000 psi), 151,68 MPa (22.000 psi), ou 165,47 MPa (24.000 10 psi). Em algumas modalidades, as forças de alto cisalhamento caracterizam-se por pressões de 110,32 MPa (16.000 psi), 117,21 MPa (17.000 psi), 124,10 MPa (18.000 psi), 131,00 MPa (19.000 psi), 137,89 MPa (20.000 psi), 144,79 MPa (21.000 psi), 151,68 MPa (22.000 psi), 158,58 MPa (23.000 psi), 165,47 MPa (24.000 psi), ou 172,37 MPa (25.000 psi).

15 Em algumas modalidades, cavitação é usada para gerar forças de alto cisalhamento. Em algumas modalidades, homogeneização à alta pressão é usada para gerar forças de alto cisalhamento.

Em algumas modalidades, a força de alto cisalhamento pode ser administrada por passagem através de um instrumento tal como, por exemplo, um processador Microfluidizer® (Microfluidics Corporation/MFIC Corporation) ou outro dispositivo similar. Os processadores Microfluidizer® fornecem pressão alta e uma alta taxa de cisalhamento resultante por aceleração do produto através de microcanais a uma velocidade alta para reduzir o tamanho para a faixa de nanoscala. O fluido é dividido em dois e é empurrado através de microcanais com dimensões típicas da ordem de 75 microns a velocidades altas (na faixa de 50-300 m/s). Quando o fluido deixa os microcanais ele forma jatos que colidem com jatos provenientes de microcanais opostos. No canais o fluido sofre alto cisalhamento (até 10^7 l/s) que é ordens de grandeza mais alto que o das tecnologias convencionais. As colisões dos jatos resultam em mistura em nível submicrônico. Portanto, nestes dispositivos, o alto cisalhamento e o impacto são responsáveis pela redução do tamanho das partículas e pela mistura de fluidos multifases na tecno- 20 25 30

logia de Microfluidizer®.

Em algumas modalidades da invenção, uma amostra é "microfluidificada" através da exposição a forças de alto cisalhamento por um período de tempo menor que cerca de 10 minutos. Em algumas modalidades, o 5 período de tempo é menor que cerca de 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, ou 1 minuto(s). Em algumas modalidades, o período de tempo está na faixa de cerca de 1-2 minutos ou menos; em algumas modalidades, o período de tempo é cerca de 30 segundos.

10 Em algumas modalidades da invenção, uma amostra é "microfluidificada" através de uma única exposição a forças de alto cisalhamento; tais modalidades são neste relatório chamadas de microfluidificação de "passe único".

15 A presente invenção abrange o reconhecimento de que submeter uma pré-mistura a forças de alto cisalhamento pode gerar uma composição de nanopartículas, e em particular pode gerar uma composição de nanopartículas uniforme.

20 Em algumas modalidades da presente invenção, todos os componentes presentes na composição final de nanopartículas estão presentes na pré-mistura e são submetidos a uma força de alto cisalhamento para produzir a composição de nanopartículas. Em algumas modalidades da presente invenção, um ou mais dos componentes que estão presentes na composição final de nanopartículas estão ausentes na pré-mistura ou estão presentes na pré-mistura em uma quantidade menor que na composição final de nanopartículas. Isto é, em algumas modalidades da presente invenção, um 25 ou mais materiais são adicionados à composição de nanopartículas depois de a pré-mistura ser submetida a uma força de alto cisalhamento.

30 Em certas modalidades da invenção, a pré-mistura é preparada como uma solução antes da aplicação da força de alto cisalhamento. Em particular, para as composições de nanopartículas que incluem pelo menos um agente biologicamente ativo (por exemplo, toxina botulínica), geralmente é desejável que o agente biologicamente ativo seja dissolvido na pré-mistura antes da aplicação da força de alto cisalhamento. Por conseguinte, em mui-

tas modalidades, o agente biologicamente ativo é solúvel em pelo menos um dos meios (ou em uma combinação dos meios utilizados na pré-mistura). Em algumas modalidades da invenção, tal dissolução requer aquecimento; em outras modalidades, não.

5 Em algumas modalidades da presente invenção, os componentes da pré-mistura podem se juntar formando partículas antes da aplicação da força de alto cisalhamento. Pelo menos algumas dessas partículas podem ser micropartículas ou mesmo nanopartículas. Em algumas modalidades, uma composição de nanopartículas da invenção é preparada a partir de
10 uma pré-mistura, onde a pré-mistura é selecionada do grupo que compreende uma suspensão ou uma microemulsão. Em algumas modalidades, no entanto, estruturas de partículas não se formam na pré-mistura antes da aplicação da força de alto cisalhamento.

Métodos de Uso

15 Em algumas modalidades, a presente invenção oferece métodos de uso das nanopartículas de AE e/ou composições de nanopartículas por distribuição das mesmas (opcionalmente em conjunto com um agente biologicamente ativo ou outra substância) para um indivíduo. Tal distribuição pode ser feita por qualquer via. Por exemplo, a distribuição pode ser por via
20 oral, parenteral, intracisternal, intravaginal, subcutânea, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, transdérmica (tópica), intradérmica, bucal, retal, e/ou oftálmica.

Em algumas modalidades, a invenção oferece métodos de distribuição transdérmica de um agente biologicamente ativo a um indivíduo por
25 administração ao indivíduo de uma ou mais nanopartículas de AE à superfície da pele do indivíduo, onde o agente biologicamente ativo está contido na superfície ou ligado à superfície das nanopartículas de AE. Em algumas modalidades, o indivíduo pode ser um mamífero (por exemplo um ser humano).

Em algumas modalidades, uma composição para distribuição
30 transdérmica de um agente biologicamente ativo pode compreender nanopartículas de AE contendo o agente a ser distribuído. Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo pode ser encapsulado nas nanopartí-

culas de AE. Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo pode estar ligado à superfície das nanopartículas de AE.

Tradicionalmente, as tentativas de administração transdérmica de substâncias requeriam uma etapa de aumentar a permeabilidade da pele antes de a substância ser aplicada. Algumas tentativas incluíram o uso de agentes químicos aumentadores da penetração que agem na superfície da pele para aumentar a permeabilidade de substâncias através da pele. O uso desses de agentes químicos aumentadores da penetração geralmente é doloroso e pode danificar a superfície da pele. Outras tentativas incluíram o uso de ultrassom ou iontoforese ou outras formas de energia para facilitar a permeação de substâncias através da pele assim como técnicas de micropuntura ou de alta energia para criar microcanais através das camadas superficiais da pele, tais como o estrato córneo. As nanopartículas de AE da presente invenção podem efetuar a distribuição transdérmica de um agente biologicamente ativo sem requerer o uso de agentes abrasivos ou outros agentes que danificam a pele (seja químicos, mecânicos, elétricos, magnéticos etc.).

Em algumas modalidades, uma composição para distribuição transdérmica de uma composição compreendendo nanopartículas de AE para distribuição transdérmica de um agente biologicamente ativo pode estar na forma de uma formulação cosmética incluindo, porém sem limitação, acondicionante de pele, loção nutritiva tipo emulsão, loção de limpeza, creme de limpeza, leite para pele, loção emoliente, creme de massagem, creme emoliente, base para maquilagem, batom, lenço facial ou gel facial, formulação para limpeza (por exemplo xampus, enxagues, limpador corporal, tônicos capilares, ou sabonetes), e composição dermatológica (por exemplo loções, pomadas, géis, cremes, emplastros e sprays).

Em algumas modalidades, uma composição para distribuição transdérmica de um agente biologicamente ativo pode estar na forma de um emplastro transdérmico. O uso de emplastros adesivos é bastante conhecido na literatura (por exemplo, vide as Patentes US 296.006 (pedido); 6.010.715, 5.591.767, 5.008.110, 5.683.712, 5.948.433, e 5.965.154. Em

algumas modalidades, o emplastro transdérmico pode compreender uma camada adesiva, que pode ser aplicada à pele de uma pessoa. Em algumas modalidades, o emplastro transdérmico pode compreender um depósito ou reservatório para conter um agente biologicamente ativo ou uma composição. Em algumas modalidades, o emplastro transdérmico compreende uma superfície externa que pode prevenir o vazamento do agente ou da composição do depósito. Em algumas modalidades, a superfície externa do emplastro pode ser não-adesiva.

Em algumas modalidades, a composição compreendendo nanopartículas de AE para distribuição transdérmica de um agente biologicamente ativo pode ser incorporada em um emplastro de modo que as nanopartículas de AE permanecem estáveis por períodos de tempo prolongados. As nanopartículas de AE podem ser incorporadas em uma matriz polimérica que estabiliza as nanopartículas de AE e permite que as nanopartículas de AE sejam espalhadas da matriz e do emplastro. Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE podem ser incorporadas na camada adesiva do emplastro. Em uma modalidade, a camada adesiva pode ser ativada por calor. Em certas modalidades, temperaturas de cerca de 37°C podem fazer com que o adesivo liquefaça lentamente para que as nanopartículas de AE se espalhem através da pele. Em certas modalidades, o adesivo pode permanecer pegajoso quando armazenado a menos de 37°C. Em algumas modalidades, o adesivo perde sua pegajosidade quando se liquefaz a temperaturas de cerca de 37°C. Em algumas modalidades, a administração das nanopartículas de AE termina quando o emplastro não adere mais à pele.

Em algumas modalidades, as composições compreendendo nanopartículas de AE para distribuição transdérmica de um agente biologicamente ativo podem ser usadas em um dispositivo de aplicação que permite a aplicação da composição a um local desejado na pele sem aplicar a composição a áreas indesejadas da pele. Em algumas modalidades, pode ser empregado um dispositivo que permite que a composição seja aplicada sem primeiro aplicar a composição a um dedo, o que pode levar à paralisia indesejada dos dedos. Dispositivos adequados incluem espátulas, cotonetes,

seringas sem agulha, e emplastros adesivos. O uso de espátulas ou cotonetes, ou similar, pode requerer que o dispositivo seja inserido em um recipiente contendo a composição. O uso de seringas ou emplastros adesivos pode ser feito enchendo-se a seringa ou emplastro com a composição. A composição pode ser topicalmente espalhada pelas espátulas ou cotonetes, ou pode ser expelida das seringas para a pele da pessoa.

Em algumas modalidades, o agente biologicamente ativo pode ser um ou mais peptídios de toxina botulínica ou complexos proteicos. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser um ou mais dos sorotipos 10 A, B, C₁, C₂, D, E, F, ou G da toxina botulínica. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser uma toxina botulínica isolada e/ou purificada. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser uma toxina botulínica parcialmente isolada e/ou parcialmente purificada. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser um complexo botulínico nativo. Em algumas 15 modalidades, a toxina botulínica pode estar associada a proteínas não-toxínicas. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode ser toxina botulínica feita de forma recombinante.

Em algumas modalidades, a toxina botulínica em uma composição para distribuição transdérmica pode estar presente em uma quantidade 20 tal que entre cerca de 10⁻³ U/kg e 10 U/kg passe através da pele do paciente. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode estar presente em uma quantidade tal que entre cerca de 10⁻² U/kg e cerca de 1 U/kg passe através da pele do paciente. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode estar presente em uma quantidade tal que entre cerca de 10⁻¹ U/kg e 25 cerca de 1 U/kg passe através da pele do paciente. Em algumas modalidades, a toxina botulínica pode estar presente em uma quantidade tal que entre cerca de 0,1 U e cerca de 5 U passe através da pele do paciente. Conforme usado neste relatório, "Unidades" ("U") são biologicamente equivalentes ou bioativamente equivalentes a Unidades definidas pelos fabricantes 30 comerciais de toxina botulínica.

Em uma modalidade, as dosagens de toxina botulínica podem variar de tão pouco quanto cerca de 1 U a tanto quanto cerca de 20.000 U.

As dosagens particulares podem variar dependendo da condição sendo tratada e do regime terapêutico sendo utilizado. Por exemplo, o tratamento de músculos hiperativos subdérmicos pode requerer dosagens transdérmicas altas (por exemplo, 200 U a 20.000 U) de toxina botulínica. Em comparação, 5 o tratamento de inflamação neurogênica ou de glândulas sudoríparas hiperativas pode requerer dosagens transdérmicas relativamente baixas (por exemplo, cerca de 1 U a cerca de 1.000 U) de toxina botulínica. Em algumas modalidades, a composição pode compreender uma quantidade de toxina botulínica suficiente para obter um efeito terapêutico que dura entre 1 mês e 10 5 anos. Em algumas modalidades, a composição compreendendo toxina botulínica pode ser formulada para evitar complicações potenciais que incluem, porém sem limitação, toxicidade sistêmica ou envenenamento por botulismo.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece métodos 15 de tratamento de rugas faciais. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica da agente biologicamente ativo podem ser usadas para tratar rugas faciais. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica de 20 toxina botulínica podem ser usadas para tratar rugas faciais. Em algumas modalidades, rugas faciais podem incluir rugas glabulares, linhas faciais (por exemplo linhas faciais hipercinéticas), linhas do cenho da testa, rugas da face média, rugas da boca, linhas e enfeixamento do pescoço (por exemplo feixes de plastima), e pregas no queixo.

25 Em algumas modalidades, a presente invenção oferece métodos de tratamento distúrbios e condições neuromusculares em um indivíduo. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica do agente biologicamente ativo podem ser usadas para tratar distúrbios e condições neuromusculares em envolvem espasmo e/ou contratura muscular. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica de toxina botulínica podem ser

usadas para tratar distúrbios e condições neuromusculares. Em algumas modalidades, distúrbios e condições neuromusculares envolvendo espasmo e/ou contratura musculares incluem, porém sem limitação, várias formas de paralisia, contratura facial, distonia, espasmo hemifacial, tremor, espasticidade (por exemplo resultante de esclerose múltipla), músculo retro-orbital, e várias outras condições oftalmológicas (Carruthers et al., 1996, J. Am. Acad. Dermatol, 34:788; aqui incorporado a título de referência). Em algumas modalidades, a presente invenção não oferece métodos para o tratamento de distúrbios e condições neuromusculares envolvendo espasmo e/ou contratura musculares em um indivíduo.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece métodos de tratamento de hiper-hidrose (isto é, uma condição médica em que a pessoa transpira excessivamente e de forma imprevisível) em um indivíduo. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica do agente biologicamente ativo podem ser usadas para tratar hiper-hidrose. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica de toxina botulínica podem ser usadas para tratar hiper-hidrose. Em algumas modalidades, a presente invenção não oferece métodos para o tratamento de hiper-hidrose em um indivíduo.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece métodos de tratamento dor de cabeça em um indivíduo. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica do agente biologicamente ativo podem ser usadas para tratar dor de cabeça. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica de toxina botulínica podem ser usadas para tratar dor de cabeça. Em algumas modalidades, a presente invenção não oferece métodos para o tratamento de dor de cabeça em um indivíduo.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece métodos de tratamento de hiperplasia da próstata em um indivíduo. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartícu-

las de AE para a distribuição transdérmica do agente biologicamente ativo podem ser usadas para tratar hiperplasia da próstata. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas compreendendo nanopartículas de AE para a distribuição transdérmica de toxina botulínica podem ser usadas para tratar hiperplasia da próstata. Em algumas modalidades, a presente invenção não oferece métodos para o tratamento de hiperplasia da próstata em um indivíduo.

Em algumas modalidades, a presente invenção oferece um método para fazer a imagem de um distúrbio (por exemplo câncer) em um indivíduo marcando uma ou mais nanopartículas de AE com um grupo repórter e com um agente de vetorização que se liga a um alvo associado ao distúrbio; administrando as partículas marcadas ao indivíduo em condições e em uma quantidade suficiente para se ligar ao alvo; e fazendo a imagem do grupo repórter, fazendo assim a imagem do distúrbio.

Em algumas modalidades, as nanopartículas de AE da invenção são usadas para distribuir fármacos para um indivíduo. Em algumas modalidades, as composições de nanopartículas podem compreender nanopartículas de AE que contém fármacos, que incluem, porém sem limitação, antibióticos, agentes antivirais, anestésicos, anticoagulantes, agentes anticâncer, inibidores de enzimas, agentes esteroides, agentes anti-inflamatórios, agentes antineoplásicos,抗ígenos, vacinas, anticorpos, descongestionantes, anti-hipertensivos, sedativos, agentes anticoncepcionais, agentes progestacionais, anticolinérgicos, analgésicos, antidepressivos, antipsicóticos, agentes bloqueadores β -adrenérgicos, diuréticos, agentes ativos cardiovasculares, agentes vasoativos, hormônios (por exemplo insulina, estradiol), e agentes anti-inflamatórios não-esteroides.

Composições Farmacêuticas

A presente invenção oferece nanopartículas de AE. Em algumas modalidades, a presente invenção oferece composições farmacêuticas compreendendo nanopartículas de AE, como descrito acima. A presente invenção oferece composições farmacêuticas compreendendo nanopartículas de AE contendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um agente biológico.

camente ativo. Tais composições farmacêuticas podem opcionalmente compreender uma ou mais substâncias terapeuticamente ativas adicionais. De acordo com uma modalidade, um método para administrar uma composição farmacêutica compreendendo nanopartículas de AE contendo uma 5 quantidade terapeuticamente eficaz de um agente terapêutico a um paciente com necessidade da mesma. Em algumas modalidades, as composições são administradas a seres humanos.

Embora as descrições de composições farmacêuticas fornecidas neste relatório estejam principalmente voltadas para composições farmacêuticas que são adequadas para administração ética a seres humanos, ficará entendido pelo versado na técnica que tais composições geralmente são adequadas para administração a animais de todos os tipos. A modificação de composições farmacêuticas adequadas para administração a seres humanos com a finalidade de tornar essas composições adequadas para administração a vários animais está bem documentada, e o farmacologista veterinário pode criar e/ou efetuar tal modificação, se houver, por mera experimentação de rotina. Os indivíduos aos quais se destina a administração das composições farmacêuticas da invenção incluem, porém sem limitação, seres humanos e/ou outros primatas; mamíferos, que incluem mamíferos 10 comerciais importantes tais como gado, porcos, cavalos, carneiros, gatos, e/ou cachorros; e/ou aves, que incluem aves comercialmente importantes 15 tais como galinhas, patos, gansos, e/ou perus.

As formulações das composições farmacêuticas descritas nesta invenção podem ser preparadas por qualquer método conhecido ou futuramente desenvolvido nas ciências farmacológicas. Em geral, tais métodos de 20 preparação incluem a etapa de associar o componente ativo a um carreador e/ou um ou mais outros componentes acessórios, e em seguida, se necessário e/ou desejável, modelar e/ou embalar o produto na forma de uma unidade desejada de dose única ou de múltiplas doses.

30 Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, embalada, e/ou vendida a granel, como uma dose unitária individual, e/ou como uma pluralidade de doses unitárias individuais. Conforme usado neste

relatório, uma "dose unitária" é uma quantidade distinta da composição farmacêutica compreendendo uma quantidade predeterminada do componente ativo. A quantidade do componente ativo geralmente é igual à dosagem do componente ativo que deve ser administrada a um indivíduo e/ou uma fração conveniente dessa dosagem, tal como, por exemplo, metade ou um terço dessa dosagem.

As quantidades relativas do componente ativo, do carreador farmaceuticamente aceitável, e/ou de quaisquer componentes adicionais em uma composição farmacêutica da invenção vão variar dependendo da identidade, do tamanho, e/ou da condição do indivíduo tratado e dependendo ainda da via pela qual a composição será administrada. A título de exemplo, a composição pode compreender entre 0,1% e 100% (p/p) de componente ativo.

Também será observado que alguns dos compostos da presente invenção podem existir na forma livre para tratamento, ou onde apropriado, como um derivado farmaceuticamente aceitável do mesmo. De acordo com a presente invenção, um derivado farmaceuticamente aceitável inclui, porém sem limitação, sais farmaceuticamente aceitáveis, ésteres farmaceuticamente aceitáveis, sais desses ésteres, ou qualquer outro aduto ou derivado que quando administrado a um paciente com necessidade do mesmo seja capaz de fornecer, direta ou indiretamente, um composto como já descrito neste relatório, ou um metabólito ou resíduo do mesmo, por exemplo, um pró-fármaco.

Conforme usado neste relatório, o termo "sal farmaceuticamente aceitável" refere-se aos sais que são, segundo critério médico razoável, adequados para uso em contato com os tecidos de seres humanos e de animais inferiores sem causar toxicidade indevida, irritação, resposta alérgica entre outros, e são condizentes com uma razão risco/benefício razoável. Sais farmaceuticamente aceitáveis são bastante conhecidos na literatura. Por exemplo, S. M. Berge, et al. descrevem detalhadamente sais farmaceuticamente aceitáveis (1977, J. Pharm. Sci., 66:1; aqui incorporado a título de referência). Os sais podem ser preparados *in situ* durante o isolamento final

e a purificação dos compostos da invenção, ou separadamente por reação da funcionalidade base livre com um ácido orgânico ou inorgânico adequado. Exemplos de sais de adição de ácido atóxicos e farmaceuticamente aceitáveis são sais de um grupo amino formados com ácidos inorgânicos tais como ácido clorídrico, ácido bromídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico e ácido perclórico ou com ácidos orgânicos tais como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico, ou ácido malônico ou usando outros métodos usados na técnica tais como troca iônica. Outros sais farmaceuticamente aceitáveis incluem sais de adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benzenossulfonato, benzoato, bissulfato, borato, butirato, canforato, canforassulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digliconato, dodecilsulfato, etanossulfonato, formiato, fumarato, glico-heptonato, glicerofosfato, gliconato, hernissulfato, heptanoato, hexanoato, iodidrato, 2-hidróxi-etanossulfonato, lactobionato, lactato, laurato, sulfato de laurila, maleato, malonato, metanossulfonato, 2-naftalenossulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartarato, tiocianato, p-toluenossulfonato, undecanoato, valerato, entre outros. Sais de metais alcalinos ou de metais alcalinos terrosos representativos incluem sódio, lítio, potássio, cálcio, magnésio, entre outros. Outros sais farmaceuticamente aceitáveis incluem, quando apropriado, cátions atóxicos de amônio, amônio quaternário, e amina formados usando contrações tais como halogeneto, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquila inferior, e sulfonato de arila.

Adicionalmente, conforme usado neste relatório, o termo "éster farmaceuticamente aceitável" refere-se a ésteres que hidrolisam *in vivo* e incluem aqueles que se decompõem facilmente no corpo humano para deixar o composto parental ou um sal do mesmo. Grupos éster adequados incluem, por exemplo, aqueles derivados de ácidos carboxílicos alifáticos farmaceuticamente aceitáveis, particularmente ácidos alcanoicos, alquenoicos, cicloalcanoicos e alcanodioicos, nos quais cada porção alquila ou alquenila vantajosamente não possui mais que 6 átomos de carbono. Exemplos de

ésteres particulares incluem formiatos, acetatos, propionatos, butiratos, acri-latos e etilsuccinatos. Em certas modalidades, os ésteres são clivados por enzimas tais como esterases.

Além disso, o termo "pró-fármacos farmaceuticamente aceitáveis" conforme usado neste relatório refere-se aos pró-fármacos dos compostos da presente invenção que são, segundo critério médico razoável, adequados para uso em contato com os tecidos de seres humanos e de animais inferiores sem causar toxicidade indevida, irritação, resposta alérgica, entre outros, condizentes com uma razão risco/benefício razoável, e eficazes para o uso desejado, assim como as formas zwiterônicas, onde possível, dos compostos da invenção. O termo "pró-fármaco" refere-se a compostos que são rapidamente transformados *in vivo* para dar o composto parental da fórmula acima, por exemplo por hidrólise no sangue. Uma discussão completa está apresentada em T. Higuchi & V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14 da A.C.S. Symposium Series e em E.B. Roche, ed., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987 (ambos aqui incorporados a título de referência).

Como descrito acima, as formulações farmacêuticas da presente invenção podem adicionalmente compreender um excipiente farmaceuticamente aceitável, que, conforme usado neste relatório, inclui todo e qualquer solvente, meio de dispersão, diluente, ou outros veículos líquidos, dispersões ou adjuvantes de dispersão, agentes tensoativos, agentes isotônicos, agentes espessantes ou emulsificantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubrificantes entre outros, segundo adequado para a forma de dosagem particular desejada. Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, A. R. Gennaro, (Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2006) descreve vários carreadores usados para formular composições farmacêuticas e técnicas conhecidas para a preparação dos mesmos. Exceto na medida em que qualquer meio carreador convencional é incompatível com uma substância ou seus derivados, tal como pela produção de qualquer efeito biológico indesejável ou de alguma forma interagindo de maneira prejudicial com quaisquer outros componentes da composição farmacêutica, seu uso é

considerado dentro do escopo desta invenção.

Em algumas modalidades, o excipiente farmaceuticamente aceitável é pelo menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou 100% puro. Em algumas modalidades, o excipiente é aprovado para uso em seres humanos e para uso veterinário. Em algumas modalidades, o excipiente é aprovado pelo United States Food and Drug Administration. Em algumas modalidades, o excipiente é de grau farmacêutico. Em algumas modalidades, o excipiente atende os padrão da Farmacopeia Americana (USP), da Farmacopeia Europeia (EP), da Farmacopeia Britânica, e/ou da Farmacopeia Internacional.

Excipientes farmaceuticamente aceitáveis usados na produção de composições farmacêuticas incluem, porém sem limitação, diluentes inertes, agentes dispersantes e/ou granulantes, agentes tensoativos e/ou emulsificantes, agentes desintegrantes, agentes aglutinantes, conservantes, agentes tamponantes, agentes lubrificantes, e/ou óleos. Tais excipientes podem ser opcionalmente incluídos nas formulações da invenção. Excipientes tais como manteiga de cacau e ceras para supositório, agentes corantes, agentes de revestimento, agentes adoçantes, flavorizantes, e aromatizantes também podem estar presentes na composição, de acordo com o critério do formulador.

Diluentes exemplificados incluem, porém sem limitação, carbonato de cálcio, carbonato de sódio, fosfato de cálcio, fosfato dicálcico, sulfato de cálcio, fosfato ácido de cálcio, fosfato de sódio, lactose, sacarose, celulose, celulose microcristalina, caulin, manitol, sorbitol, inositol, cloreto de sódio, amido desidratado, amido de milho, açúcar em pó etc., e combinações dos mesmos.

Agentes granulantes e/ou dispersantes exemplificados incluem, porém sem limitação, amido de batata, amido de milho, amido de tapioca, glicolato de amido sódico, argilas, ácido algínico, goma guar, polpa cítrica, ágar, bentonita, celulose e produtos extraídos de madeira, esponja natural, resinas trocadoras de cátions, carbonato de cálcio, silicatos, carbonato de sódio, poli(vinil-pirrolidona) reticulada (crospovidona), carboximetil amido sódico (glicolato de amido sódico), carboximetil celulose, carboximetil celulo-

se sódica reticulada (croscarmelose), metilcelulose, amido pré-gelatinizado (amido 1500), amido microcristalino, amido insolúvel em água, carboximetil celulose cálcica, silicato misto de magnésio e alumínio (Veegum), sulfato de laurila de sódio, compostos de amônio quaternário etc., e combinações dos 5 mesmos.

Tensoativos e/ou emulsificantes exemplares incluem, porém sem limitação, emulsificantes naturais (por exemplo acácia, ágar, ácido algínico, alginato de sódio, tragacanto, condrex, colesterol, xantano, pectina, gelatina, gema de ovo, caseína, gordura de lã, colesterol, cera, e lecitina), 10 argilas coloidais (por exemplo bentonita [silicato de alumínio] e Veegum [silicato misto de magnésio e alumínio]), derivados de aminoácidos de cadeia longa, álcoois de alto peso molecular (por exemplo álcool estearílico, álcool cetílico, álcool oleílico, monoestearato de triacetina, diestearato de etileno glicol, monoestearato de glicerila, e monoestearato de propileno glicol, álcool 15 polivinílico), carbômeros (por exemplo carbóxi polimetileno, ácido poliacrílico, polímero de ácido acrílico, e polímero de carboxivinila), carragenina, derivados celulósicos (por exemplo carboximetilcelulose sódica, celulose em pó, hidroximetil celulose, hidroxipropil celulose, hidroxipropil metilcelulose, metilcelulose), ésteres de ácidos graxos de sorbitan (por exemplo polioxietileno 20 sorbitan monolaurato [Tween 20], polioxietileno sorbitan [Tween 60], polioxietileno sorbitan mono-oleato [Tween 80], sorbitan monopalmitato [Span 40], sorbitan monoestearato [Span 60], sorbitan triestearato [Span 65], mono-oleato de glicerila, sorbitan mono-oleato [Span 80]), ésteres de polioxietileno (por exemplo polioxietileno monoestearato [Myrj 45], óleo de rícino hidrogenado de polioxietileno, óleo de rícino polietoxilado, polioximetileno estearato, e Solutol), ésteres de ácidos graxos de sacarose, ésteres de ácidos graxos de polietileno glicol (por exemplo Cremophor), éter de polioxietileno, (por exemplo polioxietileno lauril éter [Brij 30]), poli(vinil-pirrolidona), dietileno glicol monolaurato, trietanolamina oleato, oleato de sódio, oleato de potássio, 25 etil oleato, ácido oleico, laurato de etila, sulfato de laurila de sódio, Pluronic F 68, Poloxamer 188, brometo de cetrimônio, cloreto de cetilpiridínio, cloreto de benzalcônio, docusato sódico etc. e/ou combinações dos mesmos.

Agentes aglutinantes exemplares incluem, porém sem limitação, amido (por exemplo amido de milho e pasta de amido); gelatina; açúcares (por exemplo sacarose, glicose, dextrose, dextrina, melaços, lactose, lactitol, manitol); gomas naturais e sintéticas (por exemplo acácia, alginato de sódio, 5 extrato de musgo irlandês, goma "panwar", goma ghatti, mucilagem de palha de isapol, carboximetilcelulose, metilcelulose, etilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroxipropil celulose, hidroxipropil metilcelulose, celulose microcristalina, acetato de celulose, poli(vinil-pirrolidona), silicato misto de magnésio e alumínio (Veegum), e arabogalactana de lariço); alginatos; óxido de polietileno; 10 polietileno glicol; sais de cálcio inorgânicos; ácido silícico; polimetacrilatos; ceras; água; álcool etc.; e combinações dos mesmos.

Conservantes exemplares podem incluir antioxidantes, agentes quelantes, conservantes antimicrobianos, conservantes antifúngicos, conservantes alcoólicos, conservantes ácidos, e outros conservantes. Antioxidantes exemplares incluem, porém sem limitação, alfa tocoferol, ácido ascórbico, acorbil palmitato, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, monotioglicerol, metabissulfito de potássio, ácido propiônico, propil galato, ascorbato de sódio, bissulfito de sódio, metabissulfito de sódio, e sulfito de sódio. Agentes quelantes exemplares incluem ácido etilenodiaminatetra-acético (EDTA), mono-hidrato de ácido cítrico, edetato dissódico, edetato dipotássico, ácido edético, ácido fumárico, ácido málico, ácido fosfórico, edetato de sódio, ácido tartárico, e edetato trissódico. Conservantes antimicrobianos exemplares incluem, porém sem limitação, cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio, álcool benzílico, bronopol, cetrimida, cloreto de cetilpiridínio, clorexidina, clorobutanol, clorocresol, cloroxilenol, cresol, álcool etílico, glicerina, hexetidina, imidoureia, fenol, fenoxietanol, álcool feniletílico, nitrato fenilmercúrico, propileno glicol, e timerosal. Conservantes antifungidos exemplares incluem, porém sem limitação, butila parabeno, metil parabeno, etil parabeno, propil parabeno, ácido benzoico, ácido hidroxibenzoico, 20 benzoato de potássio, sorbato de potássio, benzoato de sódio, propionato de sódio, e ácido sórbico. Conservantes alcoólicos exemplares incluem, porém sem limitação, etanol, polietileno glicol, fenol, compostos fenólicos, bisfenol,

clorobutanol, hidroxibenzoato, e álcool feniletílico. Conservantes ácidos exemplares incluem, porém sem limitação, vitamina A, vitamina C, vitamina E, beta-caroteno, ácido cítrico, ácido acético, ácido desidroacético, ácido ascórbico, ácido sórbico, e ácido fítico. Outros conservantes incluem, porém sem limitação, tocoferol, acetato de tocoferol, mesilato de deteroxima, cetrimida, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), etilenodiamina, sulfato de laurila de sódio (SLS), lauril éter sulfato de sódio (SLES), bissulfito de sódio, metabissulfito de sódio, sulfito de potássio, metabissulfito de potássio, Glydant Plus, Phenonip, metilparabeno, Germall 115, Germanben II, Neolone, Kathon, e Euxyl. Em certas modalidades, o conservante é um antioxidante. Em outras modalidades, o conservante é um agente queilante.

Agentes tamponantes exemplares incluem, porém sem limitação, soluções de tampão citrato, soluções de tampão acetato, soluções de tampão fosfato, cloreto de amônio, carbonato de cálcio, cloreto de cálcio, citrato de cálcio, glubionato de cálcio, gluceptato de cálcio, gliconato de cálcio, ácido D-glicônico, glicerofosfato de cálcio, lactato de cálcio, ácido propionico, levulinato de cálcio, ácido pentanoico, fosfato de cálcio dibásico, ácido fosfórico, fosfato de cálcio tribásico, fosfato de hidróxido de cálcio, acetato de potássio, cloreto de potássio, gliconato de potássio, misturas de potássio, fosfato de potássio dibásico, fosfato de potássio monobásico, misturas de fosfato de potássio, acetato de sódio, bicarbonato de sódio, cloreto de sódio, citrato de sódio, lactato de sódio, fosfato de sódio dibásico, fosfato de sódio monobásico, misturas de fosfato de sódio, trometamina, hidróxido de magnésio, hidróxido de alumínio, ácido algínico, água livre de pirogênio, solução salina isotônica, solução de Ringer, álcool etílico etc., e combinações dos mesmos.

Agentes lubrificantes exemplares incluem, porém sem limitação, estearato de magnésio, estearato de cálcio, ácido esteárico, sílica, talco, malte, beenato de glicerila, óleos vegetais hidrogenados, polietileno glicol, benzoato de sódio, acetato de sódio, cloreto de sódio, leucina, sulfato de laurila de magnésio, sulfato de laurila de sódio etc., e combinações dos

mesmos.

Óleos exemplares incluem, porém sem limitação, óleos de amêndoas, caroço de damasco, abacate, babaçu, bergamota, semente-de-groselha-preta, borragem, cade, camomila, canola, cominho-armênio, carnaúba, rícino, canela, manteiga de cacau, coco, fígado de bacalhau, café, milho, semente de algodão, emu, eucalipto, enotera, peixe, semente de linhaça, geraniol, abóbora, semente de uva, avelã, hissopo, miristato de isopropila, jojoba, noz kukui, lavandina, lavanda, limão, litsea cubeba, macadâmia, malva, caroço de manga, Limnanthes, visão, noz-moscada, oliva, laranja, Hippophae rhamnoides, palma, caroço de palma, caroço de pêssego, amendoim, semente de papoula, semente de abóbora, semente de colza, farelo de arroz, alecrim, açafrão, sândalo, sasquana, segurelha, sanguinheiro do mar, gergelim, manteiga de carité, silicone, soja, girassol, chá-da-índia, cardo, tsubaki, vetiver, avelã, e gérmens de trigo. Óleos exemplares incluem, porém sem limitação, estearato de butila, triglicerídeo caprílico, triglicerídeo cáprico, ciclometicona, sebacato de dietilaa, dimeticona 360, miristato de isopropila, óleo mineral, octildodecanol, álcool oleílico, óleo de silicone, e combinações dos mesmos.

As composições farmacêuticas podem ser administradas a animais, de preferência mamíferos (por exemplo, animais domesticados, gatos, cachorros, camundongos, ratos), e mais preferivelmente seres humanos. Qualquer método de administração pode ser usado para distribuir as composições farmacêuticas para as composições farmacêuticas para o animal. Em certas modalidades, a composição farmacêutica é administrada por via oral. Em outras modalidades, a composição farmacêutica é administrada por via parenteral.

Em algumas modalidades da invenção, é fornecido um método para o tratamento de rugas faciais que compreende administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de nanopartículas de AE compreendendo toxina botulínica a um indivíduo com necessidade da mesma, nas quantidades e pelo tempo necessários para obter o resultado desejado. Em certas modalidades da presente invenção uma "quantidade terapeuticamente eficaz" das

nanopartículas de AE compreendendo toxina botulínica é a quantidade eficaz para tratar rugas faciais incluindo, porém sem limitação, rugas glabares, linhas faciais (por exemplo linhas faciais hipercinéticas), linhas do cenho da testa, rugas da face média, rugas da boca, linhas e enfeixamento do pescoço (por exemplo feixes de plastima), e pregas no queixo.

Em algumas modalidades da invenção, é fornecido um método para o tratamento de hiper-hidrose que compreende administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz de nanopartículas de AE compreendendo toxina botulínica às mãos, pés, e/ou axilas de um indivíduo com necessidade da mesma, nas quantidades e pelo tempo necessários para obter o resultado desejado.

As composições, de acordo com o método da presente invenção, podem ser administradas usando qualquer quantidade e qualquer via de administração eficaz para tratar rugas faciais. A quantidade exata requerida vai variar de indivíduo para indivíduo, dependendo da espécie, da idade, e da condição geral do indivíduo, da severidade da infecção, da composição particular, de seu modo de administração, de seu modo de atividade, entre outros. As composições da invenção são de preferência formuladas em forma unitária de dosagem para facilidade de administração de uniformidade da dosagem. Ficará entendido, no entanto, que o uso diário total das composições da presente invenção será decidido pelo médico assistente segundo critério médico razoável. O nível específico da dose terapeuticamente eficaz para qualquer paciente ou organismo particular vai depender de vários fatores que incluem o distúrbio sendo tratado e a severidade do distúrbio; a atividade do composto específico empregado; a composição específica empregada; a idade, o peso corporal, o estado geral de saúde, o sexo e a dieta do paciente; o tempo de administração, a via de administração, e a taxa de excreção do composto específico empregado; a duração do tratamento; os fármacos usados em combinação ou coincidindo com o composto específico empregado; entre outros fatores bastante conhecidos na literatura médica.

As composições farmacêuticas da presente invenção podem ser administradas por qualquer via. Em algumas modalidades, as composições

- farmacêuticas da presente invenção são administradas por várias vias, que incluem a via oral, intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intramedular, intratecal, subcutânea, intraventricular, transdérmica, interdérmica, retal, intravaginal, intraperitoneal, tópica (como por pós, pomadas, cremes, e/ou gotas), mucosa, bucal, entérica, sublingual, e/ou como um spray oral, spray nasal, e/ou aerossol. Em geral a via de administração mais apropriada vai depender de vários fatores que incluem a natureza do agente (por exemplo, sua estabilidade no ambiente do trato gastrointestinal), a condição do paciente (por exemplo, se o paciente consegue tolerar a administração oral) etc.
- 5 No momento a via de spray oral e/ou nasal e/ou aerossol é a mais comumente usado para distribuir agentes terapêuticos diretamente para os pulmões e/ou para o sistema respiratório. Contudo, a invenção abrange a distribuição da composição farmacêutica da invenção por qualquer via apropriada levando em consideração os possíveis avanços nas ciências de distribuição de fármacos.
- 10
- 15

Em certas modalidades, os compostos da invenção podem ser administrados por via oral ou parenteral em níveis de dosagem suficientes para distribuir de cerca de 0,001 mg/kg a cerca de 100 mg/kg, de cerca de 0,01 mg/kg a cerca de 50 mg/kg, de preferência de cerca de 0,1 mg/kg a cerca de 40 mg/kg, de preferência de cerca de 0,5 mg/kg a cerca de 30 mg/kg, de cerca de 0,01 mg/kg a cerca de 10 mg/kg, de cerca de 0,1 mg/kg a cerca de 10 mg/kg, e mais preferivelmente de cerca de 1 mg/kg a cerca de 25 mg/kg, de peso corporal do indivíduo por dia, uma ou mais vezes ao dia, para obter o efeito terapêutico desejado. A dosagem desejada pode ser distribuída três vezes ao dia, duas vezes ao dia, uma vez ao dia, em dias alternados, de três em três dias, uma vez por semana, de duas em duas semanas, de três em três semanas, ou de quatro em quatro semanas. Em certas modalidades, a dosagem desejada pode ser distribuída usando várias administrações (por exemplo, duas, três, quatro, cinco, seis, sete, oito, nove, dez, onze, doze, treze, quatorze ou mais administrações).

20

25

30

Formas líquidas de dosagem para administração oral e parenteral incluem, porém sem limitação, emulsões, microemulsões, soluções, sus-

pensões, xaropes e elixires farmaceuticamente aceitáveis. Além dos compostos ativos, as formas líquidas de dosagem podem conter diluentes inertes comumente usados na técnica tais como, por exemplo, água ou outros solventes, agentes solubilizantes e emulsificantes tais como álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etila, acetato de etila, álcool benzílico, benzoato de benzila, propileno glicol, 1,3-butileno glicol, dimetilformamida, óleos (em particular, óleos de semente de algodão, amendoim, milho, germe, oliva, rícino, e gergelim), glicerol, álcool tetra-hidrofurfurílico, polietileno glicóis e ésteres de ácidos graxos de sorbitan, e misturas dos mesmos. Além de diluentes inertes, as composições orais também podem incluir adjuvantes tais como agentes umectantes, agentes emulsificantes e suspensores, agentes adoçantes, flavorizantes, e aromatizantes. Em certas modalidades para administração parenteral, os compostos da invenção são misturados com agentes solubilizantes tais como um cremóforo, álcoois, óleos, óleos modificados, glicóis, polissorbatos, ciclodextrinas, polímeros, e combinações dos mesmos.

Preparações injetáveis, por exemplo, suspensões aquosas ou oleaginosas injetáveis estéreis podem ser formuladas de acordo com a técnica conhecida usando agentes dispersantes ou umectantes e agentes suspensores adequados. A preparação injetável estéril também pode ser uma solução, suspensão ou emulsão injetável estéril em um diluente ou solvente atóxico e parenteralmente aceitável, por exemplo, como uma solução em 1,3-butanodiol. Entre os veículos e solventes aceitáveis que podem ser empregados encontram-se água, solução de Ringer, solução de cloreto de sódio U. S. P. e isotônica. Além disso, óxidos fixos estéreis são convencionalmente empregados como solvente ou meio de dispersão. Para tanto qualquer óleo fixo brando pode ser empregado incluindo monoglicerídeos ou diglicerídeos sintéticos. Além disso, ácidos graxos tais como ácido oleico são usados na preparação de injetáveis.

As formulações injetáveis podem ser esterilizadas, por exemplo, por filtração através de um filtro de retenção bacteriana, ou pela incorporação de agentes esterilizantes na forma de composições sólidos estéreis que

podem ser dissolvidas ou dispersadas em água estéril ou outro meio injetável estéril antes do uso.

Para prolongar o efeito de um fármaco, frequentemente é desejável retardar a absorção do fármaco proveniente de injeção subcutânea ou intramuscular. Isto pode ser feito pelo uso de uma suspensão líquida de material cristalino ou amorfo com pobre solubilidade em água. A taxa de absorção do fármaco depende então de sua taxa de dissolução que, por sua vez, pode depender do tamanho do cristal e da forma cristalina. Alternativamente, a absorção retardada de uma forma medicamentosa administrada por via parenteral é feita dissolvendo-se ou suspendendo-se a fármaco em um veículo oleoso. Formas de depósito injetáveis são produzidas por formação de matrizes microencapsuladas do fármaco em polímeros biodegradáveis tais como polilactídeo-poliglicolídeo. Dependendo da proporção de fármaco para polímero e da natureza do polímero particular empregado, a taxa de liberação do fármaco pode ser controlada. Exemplos de outros polímeros biodegradáveis incluem poli(ortoésteres) e poli(anidridos). Formulações injetáveis de depósito também são preparadas aprisionando-se a fármaco em lipossomas ou microemulsões que são compatíveis com os tecidos do corpo.

Composições para administração retal ou vaginal são de preferência supositórios que podem ser preparados por misturação dos compostos desta invenção com excipientes ou carreadores não-irritantes adequados tais como manteiga de cacau, polietileno glicol ou uma cera para supositório que são sólidos à temperatura ambiente porém líquidos à temperatura corporal e portanto derretem no reto ou na cavidade vaginal e liberam o composto ativo.

Formas sólidas de dosagem para administração oral incluem cápsulas, comprimidos, pílulas, pós, e grânulos. Nestas formas sólidas de dosagem, o composto ativo é misturado com pelo menos um excipiente ou carreador inerte e farmaceuticamente aceitável tal como citrato de sódio ou fosfato dicálcico e/ou a) cargas ou extensores tais como amidos, lactose, sacarose, glicose, manitol, e ácido silícico, b) aglutinantes tais como, por exemplo, carboximetilcelulose, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidinona, saca-

* rose, e acácia, c) umectantes tais como glicerol, d) agentes desintegrantes tais como ágar-ággar, carbonato de cálcio, amido de batata ou tapioca, ácido algínico, certos silicatos, e carbonato de sódio, e) agentes retardadores de solução tais como parafina, f) aceleradores da absorção tais como compostos 5 de amônio quaternário, g) agentes umectantes tais como, por exemplo, álcool cetílico e glicerol monoestearato, h) absorventes tais como caulim e argila bentonita, e i) lubrificantes tais como talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietileno glicóis sólidos, sulfato de laurila de sódio, e misturas dos mesmos. No caso de cápsulas, comprimidos e pílulas, a forma 10 de dosagem também compreender agentes tamponantes.

Composições sólidas de tipo similar também podem ser empregadas como cargas em cápsulas cheias de gelatina mole e dura usando excipientes tais como lactose ou açúcar de leite assim como polietileno glicóis de alto peso molecular, entre outros. As formas sólidas de dosagem de 15 comprimidos, drágeas, cápsulas, pílulas, e grânulos podem ser preparadas com revestimentos e envoltórios tais como revestimentos entéricos e outros revestimentos bastante conhecidos na técnica de formulação farmacêutica. Elas podem opcionalmente conter agentes opacificantes e também podem ser de uma composição tal que elas liberam os componentes ativos somente, ou de preferência, em uma certa parte do trato intestinal, opcionalmente, de maneira lenta. Exemplos de composições de envoltório que podem ser usadas incluem substâncias poliméricas e ceras. Composições sólidas de tipo similar também podem ser empregadas como cargas em cápsulas cheias de gelatina mole e dura usando excipientes tais como lactose ou açúcar 20 de leite assim como polietileno glicóis de alto peso molecular, entre outros. 25

Os compostos ativos também podem estar em forma microencapsulada com um ou mais excipientes, como observado acima. As formas sólidas de dosagem de comprimidos, drágeas, cápsulas, pílulas, e grânulos podem ser preparadas com revestimentos e envoltórios tais como revestimentos entéricos, revestimentos que controlam a liberação e outros revestimentos bastante conhecidos na técnica de formulação farmacêutica. Nestas 30 formas sólidas de dosagem o composto ativo pode ser misturado com pelo

menos um diluente inerte tal como sacarose, lactose ou amido. Estas formas de dosagem também podem compreender, como é de praxe, substâncias adicionais que não diluentes inertes, por exemplo, lubrificantes de tabletagem e outros coadjuvantes de tabletagem tais como estearato de magnésio e celulose microcristalina. No caso de cápsulas, comprimidos e pílulas, as formas de dosagem também podem compreender agentes tamponantes. Elas podem opcionalmente conter agentes opacificantes e também podem ser de uma composição tal que elas liberam os componentes ativos somente, ou de preferência, em uma certa parte do trato intestinal, opcionalmente, de maneira lenta. Exemplos de composições de envoltório que podem ser usadas incluem substâncias poliméricas e ceras.

Formas de dosagem para administração tópica e/ou transdérmica de um composto desta invenção podem incluir pomadas, pastas, cremes, loções, géis, pós, soluções, sprays, inalantes e/ou emplastros. Geralmente, o componente ativo é misturado em condições estéreis com um carreador farmaceuticamente aceitável e/ou quaisquer conservantes e/ou tampões necessários, conforme a necessidade. Adicionalmente, a presente invenção contempla o uso de emplastros transdérmicos, que geralmente possuem a vantagem adicional de proporcionar distribuição controlada de um composto para o corpo. Estas formas de dosagem podem ser preparadas, por exemplo, por dissolução e/ou dispensa do composto no meio apropriado. Alternativamente ou adicionalmente, a taxa pode ser controlada seja pelo fornecimento de uma membrana controladora da taxa e/ou por dispersão do composto em uma matriz e/ou gel poliméricos.

Dispositivos adequados para uso na distribuição das composições farmacêuticas intradérmicas descritas nesta invenção incluem dispositivos com agulha curta tais como aqueles nas Patentes US 4.886.499, 5.190.521, 5.328.483, 5.527.288, 4.270.537, 5.015.235, 5.141.496, e 5.417.662 (todas aqui incorporadas a título de referência). As composições intradérmicas podem ser administradas por dispositivos que limitam a profundidade de penetração eficaz de uma agulha na pele, tais como aqueles descritos na publicação PCT WO 99/34850 (aqui incorporada a título de refe-

rência) e equivalentes funcionais dos mesmos. Dispositivos de injeção por jato que distribuem vacinas líquidas para a derme através de um injetor de jato de líquido e/ou através de uma agulha que perfura o estrato córneo e produz um jato que atinge a derme são adequados. Dispositivos de injeção por jato estão descritos, por exemplo, nas Patentes US 5.480.381, 5.599.302, 5.334.144, 5.993.412, 5.649.912, 5.569.189, 5.704.911, 5.383.851, 5.893.397, 5.466.220, 5.339.163, 5.312.335, 5.503.627, 5.064.413, 5.520.639, 4.596.556, 4.790.824, 4.941.880, 4.940.460; e nas publicações PCT WO 97/37705 e WO 97/13537; todas aqui incorporadas a título de referência. Dispositivos de distribuição de pó/partícula balísticos que usam gás comprimido para acelerar a vacina na forma de pó através das camadas externas da pele até a derme são adequados. Alternativamente ou adicionalmente, seringas convencionais podem ser usadas no método de Mantoux clássico de administração intradérmica.

15 Formulações adequadas para administração tópica incluem, porém sem limitação, preparações líquidas e/ou semilíquidas tais como linimentos, loções, emulsões de óleo-em-água e/ou de água em óleo tais como cremes, pomadas e/ou pastas, e/ou soluções e/ou suspensões. Formulações administráveis por via tópica podem, por exemplo, compreender de 20 cerca de 1% a cerca de 10% (p/p) de componente ativo, embora a concentração do componente ativo possa ser tão alta quanto o limite de solubilidade do componente ativo no solvente. As formulações para administração tópica podem compreender ainda um ou mais dos componentes adicionais descritos neste relatório.

25 Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, embalada, e/ou vendida em uma formulação adequada para administração pulmonar através da cavidade bucal. Tal formulação pode compreender partículas secas que compreendem o componente ativo e que têm um diâmetro na faixa de cerca de 0,5 a cerca de 7 nanômetros ou de cerca de 1 a cerca 30 de 6 nanômetros. Estas composições estão convenientemente na forma de pós secos para administração através do uso de um dispositivo que compreender um reservatório de pó seco para o qual uma corrente de propelente

pode ser direcionada para dispersar o pó e/ou através do uso de um recipiente autopropelente para dispensa de solvente/pó tal como um dispositivo compreendendo o componente ativo dissolvido e/ou suspenso em um propelente de baixo ponto de ebulação em um recipiente vedado. Tais pós 5 compreende partículas onde pelo menos 98% em peso das partículas têm um diâmetro maior que 0,5 nanômetros e pelo menos 95% em número das partículas têm um diâmetro menor que 7 nanômetros. Alternativamente, pelo menos 95% em peso das partículas têm um diâmetro maior que 1 nanômetro e pelo menos 90% em número das partículas têm um diâmetro menor 10 que 6 nanômetros. As composições de pó seco podem incluir um diluente em pó fino e sólido tal como açúcar e são convenientemente apresentadas em uma forma de dose unitária.

Propelentes de baixo de ebulação geralmente incluem propelentes líquidos com um ponto de ebulação abaixo de 18,3°C (65 graus F) à 15 pressão atmosférica. Geralmente o propelente pode constituir 50 a 99,9% (p/p) da composição, e o componente ativo pode constituir 0,1 a 20% (p/p) da composição. O propelente pode compreender ainda componentes adicionais tais como um tensoativo não-iônico líquido e/ou um tensoativo aniônico sólido e/ou um diluente sólido (que pode ter um tamanho de partícula da 20 mesma que as partículas compreendendo o componente ativo).

As composições farmacêuticas da invenção formuladas para distribuição pulmonar podem oferecer o componente ativo na forma de gotas de uma solução e/ou suspensão. Tais formulações podem ser preparadas, embaladas, e/ou vendidas como solução e/ou suspensões aquosas e/ou 25 soluções e/ou suspensões alcoólicas diluídas, opcionalmente estéreis, compreendendo o componente ativo, e podem ser convenientemente administradas usando qualquer dispositivo de nebulização e/ou atomização. Tais formulações podem compreender ainda um ou mais componentes adicionais incluindo, porém sem limitação, um agente flavorizante tal como sacarina 30 sódica, um óleo volátil, um agente tamponante, um agente tensoativo, e/ou um conservante tal como hidroxibenzoato de metila. As gotas fornecidas por esta via de administração têm um diâmetro médio na faixa de cerca de 0,1

nm a cerca de 200 nm.

As formulações descritas nesta invenção como sendo úteis para distribuição pulmonar são úteis para distribuição intranasal de uma composição farmacêutica da invenção. Uma outra formulação adequada para administração intranasal é um pó grosso compreendendo o componente ativo e tendo uma partícula média de cerca de 0,2 µm a 500 µm. Tal formulação é administrada através de uma fungadela, isto é, por inalação rápida através da passagem nasal a partir de um recipiente do pó mantido próximo às narinas.

Formulações adequadas para administração nasal podem, por exemplo, compreender tão pouco quanto cerca de 0,1% (p/p) e tanto quanto 100% (p/p) do componente ativo, e pode compreender um ou mais dos componentes adicionais descritos nesta invenção. Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, embalada, e/ou vendida em uma formulação adequada para administração bucal. Tais formulações podem, por exemplo, estar na forma de comprimidos e/ou pastilhas feitas usando métodos convencionais, e podem, por exemplo, 0,1% a 20% (p/p) de componente ativo, o equilíbrio compreendendo uma composição dissolvível e/ou degradável oralmente e, opcionalmente, um ou mais dos componentes adicionais descritos nesta invenção. Alternativamente, formulações adequadas para administração bucal podem compreender um pó e/ou uma solução e/ou suspensão aerossolizada e/ou atomizada compreendendo o componente ativo. Tais formulações em pó, aerossolizadas, e/ou aerossolizadas, quando dispersadas, podem ter um tamanho de partícula e/ou gota médio na faixa de cerca de 0,1 nm a cerca de 200 nm, e podem compreender ainda um ou mais dos componentes adicionais descritos nesta invenção.

Uma composição farmacêutica da invenção pode ser preparada, embalada, e/ou vendida em uma formulação adequada para administração oftálmica. Tais formulações podem, por exemplo, estar na forma de gotas oculares incluindo, por exemplo, uma solução e/ou suspensão a 0,1%/1,0% (p/p) do componente ativo em um carreador líquido aquoso ou oleoso. Tais gotas podem compreender ainda agentes tamponantes, sais, e/ou um ou

mais outros dos componentes adicionais descritos nesta invenção. Outras formulações administráveis por via oftálmica que são úteis incluem aquelas que compreendem o componente ativo em forma microcristalina e/ou em uma preparação lipossômica. Gotas óticas e/ou gotas oculares são contempladas como estando dentro do escopo desta invenção.

Também será observado que os compostos e as composições farmacêuticas da presente invenção podem ser empregados em terapias combinadas. A combinação particular de terapias (terápicos ou procedimentos) a ser empregada em um regime combinado levará em conta a compatibilidade dos terápicos e/ou procedimentos desejados e o efeito terapêutico que se deseja obter. Também será observado que as terapias empregadas podem obter um efeito desejado para o mesmo distúrbio (por exemplo, um composto da invenção pode ser administrado concorrentemente com um outro agente anticâncer), ou elas podem obter efeitos diferentes (por exemplo, controle de quaisquer efeitos adversos).

As composições farmacêuticas da presente invenção podem ser administradas isoladas ou em combinação com um ou mais outros agentes terapêuticos. Por "em combinação com" não se pretende inferir que os agentes devem ser administrados ao mesmo tempo e/ou formulados para distribuição conjunta, embora estes métodos de distribuição estejam dentro do escopo da invenção. As composições podem ser administradas concorrentemente com, antes de, ou subsequente a, um ou mais outros terápicos desejados ou procedimentos médicos. Em geral, cada agente será administrado a uma dose e/ou em um programa determinado para aquele agente. Adicionalmente, a invenção abrange a distribuição das composições farmacêuticas da invenção em combinação com agentes que podem aumentar sua disponibilidade, reduzir e/ou modificar seu metabolismo, inibir sua excreção, e/ou modificar sua distribuição no corpo.

A combinação particular de terapias (terápicos e/ou procedimentos) a ser empregada em um regime combinado levará em conta a compatibilidade dos terápicos e/ou procedimentos desejados e/ou o efeito terapêutico que se deseja obter. Será observado que as terapias empregadas podem

- obter um efeito desejado para o mesmo distúrbio (por exemplo, um composto da invenção pode ser administrado concorrentemente com um outro agente usado para tratar o mesmo distúrbio), e/ou elas podem obter efeitos diferentes (por exemplo, controle de quaisquer efeitos adversos).
- 5 As composições farmacêuticas da presente invenção podem ser administradas isoladas e/ou em combinação com outros agentes que são usados para tratar os sintomas de rugas faciais. Para dar apenas alguns exemplos, as composições farmacêuticas da presente invenção podem ser administradas em combinação com agentes tais como ácido retinoico, vitamina C e/ou E, e/ou ácido hialurônico, pentapeptídios (por exemplo, lys-thr-thr-lys-ser), e/ou hexapeptídios (por exemplo acetila hexapeptídio-3, também conhecido como Argirelina), dependendo da via de administração. Novas composições compreendendo pentapeptídios e hexapeptídios estão ainda descritas na publicação PCT série número PCT/US07/_____ intitulada
- 10 "Peptide Nanoparticles and Uses Thereof", depositada em 30 de novembro de 2007.
- 15

Será ainda observado que os agentes terapeuticamente ativos utilizados em combinação podem ser administrados juntos em uma única composição ou administrados separadamente em composições diferentes.

20 Em geral, espera-se que os agentes utilizados em combinação sejam utilizados em níveis que não ultrapassam os níveis nos quais eles são utilizados individualmente. Em algumas modalidades, os níveis utilizados em combinação serão menores que aqueles utilizados individualmente.

25 Considerações gerais na formulação e/ou produção de agentes farmacêuticos podem ser encontradas, por exemplo, em Remington: The Science and Practice of Pharmacy 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

Kits

30 Em algumas modalidades, a presente invenção refere-se a kit para a realização conveniente e/ou eficaz dos métodos de acordo com a presente invenção. Em geral, um pacote e/ou kit da invenção compreende um ou mais recipientes cheios com um ou mais dos componentes das com-

* posições farmacêuticas da invenção. Tais kits são especialmente adequados para a distribuição de formas orais sólidas tais como comprimidos e/ou cápsulas. Em algumas modalidades, tal kit inclui várias dosagens unitárias, e pode incluir uma cartela com as dosagens orientadas na ordem de uso desejada. Um meio de lembrete pode ser oferecido, por exemplo na forma de números, letras, e/ou outras marcações e/ou com um calendário, indicando os dias no programa de tratamento em que as dosagens podem ser administradas. Alternativamente, dosagens de placebo, e/ou suplementos dietéticos de cálcio, seja de forma semelhante ou distinta das dosagens das composições farmacêuticas, podem ser incluídas para oferecer um kit no qual uma dosagem é tomada diariamente. Opcionalmente associado a tais recipientes pode se encontrar um aviso na forma prescrita por um órgão governamental que regula a produção, o uso e/ou a venda de produtos farmacêuticos, aviso este que reflete a aprovação pelo órgão da produção, uso e/ou venda para administração a seres humanos.

A invenção oferece um kit compreendendo nanopartículas de AE da invenção e/ou material de instrução que descreve a administração das nanopartículas de AE inventivas a uma célula e/ou a um tecido de um indivíduo. Em uma outra modalidade, um kit pode compreender um meio de dispersão adequado para dissolver e/ou suspender as nanopartículas de AE inventivas antes da administração do composto ao indivíduo.

Exemplificação

Os exemplos a seguir destinam-se a ilustrar modalidades específicas contempladas pela presente invenção. Os exemplos não devem de forma alguma ser considerados limitativos.

Exemplo 1: Formulação de uma nanoesfera de pululan e policaprolactona automaticamente formada

Uma mistura de 2,5 g de óleo de soja e 2,5 g de polissorbato 80 (Tween-80) foi preparada. A mistura foi agitada e aquecida a 40°C por 5 minutos. 50 ml de água desionizada foram adicionados, e a mistura resultante foi agitada e aquecida a 40°C por 10 minutos. 5 ml de DMSO contendo 0,905 g de pululan e policaprolactona foram adicionados, e a mistura resul-

tante foi agitada e aquecida a 45°C por 10 minutos. 5 ml foram retirados como uma amostra pré-processo. A mistura restante foi microfluidificada em um passe único a 165,47 MPa (24.000 psi). O tamanho das partículas da amostra pré-processo foi >4000 nm. O tamanho das partículas depois da microfluidificação foi 155 nm.

Exemplo 2: Preparação de amostra para amostra microfluidificada (por amostra)

Uma mistura de 100 µl de amostra microfluidificada e 900 µl de reagente (0,1 M de tampão fosfato de sódio, 1 mM de EDTA, 0,25% de Triton X-100, 160 IU/mL de triglicerídeo hidrolase, e 1 IU/ml de colesterol esterase) foi preparada em um frasco de vidro de 8 ml.

Uma mistura resultante foi incubada à temperatura ambiente no escuro por 1 hora. 100 µl de dodecil sulfato de sódio a 5% foram adicionados, e a mistura resultante foi turbilhonada por 30 segundos. 1 ml de etanol foi adicionado, e a mistura resultante foi turbilhonada por 30 segundos. 100 µl de um padrão interno foram adicionados, e a mistura resultante foi turbilhonada por 30 segundos. 4 ml de uma mistura 1 :1 de hexano : éter com 1% de etanol e 0,1% de BHT foram adicionados. O etanol e o BHT estabilizam o éter para prevenir a formação de peróxido. A mistura resultante foi turbilhonada por 60 segundos e em seguida centrifugada por 2 minutos a uma velocidade média. O sobrenadante foi extraído com uma pipeta de vidro e foi armazenado a -80°C por até 30 dias. O sobrenadante foi evaporado e redissolvido em 40 µl de metanol. 30 µl foram injetados em um aparelho de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC).

Exemplo 3: Formulação de toxina botulínica A com pululan e policaprolactona

Uma mistura de 1,6 g de óleo de soja e 1,6 g de polissorbato 80 (Tween-80) é preparada e agitada por cinco minutos. Em um recipiente separado, uma mistura de 100 ng de toxina botulínica A e 20 ml de solução salina a 0,9% é preparada e agitada por cinco minutos. A mistura de solução salina e toxina botulínica A é adicionada à mistura de óleo e Tween-80 e agitada por 10 minutos. 5 ml de DMSO contendo 0,905 gramas de pululan e

policaprolactona são adicionados, e a mistura resultante é agitada por 10 minutos. São retirados 5 ml como amostra pré-processo. A mistura restante é microfluidificada em um passe único a 165,47 MPa (24.000 psi). O tamanho das partículas antes e depois da microfluidificação é medido.

5 **Exemplo 4:** formulação de Vitamina E com pululan e policaprolactona

Uma mistura de 2,5 g de óleo de soja e 1 g de vitamina E é preparada. 2,5 g de polissorbato 80 (Tween-80) são adicionados. A mistura resultante é agitada e aquecida a 40°C por 5 minutos. 50 ml de água são adicionados à mistura, e a mistura resultante é agitada e aquecida a 40°C por 10 minutos. 5 ml de DMSO contendo 0,905 g de pululan e policaprolactona são adicionados. A mistura resultante é agitada e aquecida a 45°C por 10 minutos. São retirados 5 ml como amostra pré-processo. A mistura restante é microfluidificada em um passe único a 165,47 MPa (24.000 psi). O tamanho das partículas antes e depois da microfluidificação é medido.

15 **Exemplo 5:** Análise do tocoferol (Vitamina E)

As concentrações de delta tocoferol podem ser medidas para o plasma sanguíneo de um paciente ou para composições de nanopartículas. As concentrações de delta tocoferol são determinadas através da adição de 200 µL de plasma ou composição de nanopartículas com 10 µL de acetato de retinila (padrão interno; 10 µg/mL) e 200 µL de etanol contendo hidroxitolueno butilado (BHT) (10 mg/L) e 1,0 mL de hexano seguida de misturação turbulenta. As amostras são centrifugadas a 500 x g por 5 minutos e a camada orgânica é transferida para um novo tubo. Os resíduos da amostra são novamente extraídos com 1,0 mL de hexano e as camadas orgânicas são combinadas. 20 As camadas orgânicas são evaporadas em uma atmosfera de N₂ e reconstituídas com 200 µL de etanol contendo BHT (10 mg/dL) e injetadas em um HPLC. O sistema de HPLC é um sistema de 8 canais CoulArray Modelo 5600 com duas bombas Modelo 580, um misturador de gradientes de alta pressão, um registro de pulso de inspeção, um injetor automático Modelo 25 540 autoinjector, uma câmara termostática CoulArray e um conjunto em série de oito eletrodos coulométricos (ESA Laboratories, Inc., Chelmsford, MA, EUA). A coluna é uma Supelcosil LC-18, 3,0 x 150 mm, 3 µM (Supelco, Bel-

lefonte, PA, EUA). A fase móvel consiste em metanol/1Propanol/acetato de amônio 1 M (78:20:2 v:v:v) a uma taxa de fluxo de 0,8 mL/min. As concentrações de delta tocoferol são determinadas por normalização externa usando soluções purificadas de padrões de delta tocoferol (Sigma Chemicals, St.

5 Louis, MO, EUA).

Equivalentes e Escopo

O acima exposto foi uma descrição de certas modalidades preferidas e não limitadas da invenção. Os versados na técnica vão perceber, ou conseguirão determinar usando apenas experimentação de rotina, muitos 10 equivalentes para as modalidades específicas da invenção descritas neste relatório. Os versados na técnica vão observar que diversas alterações ou modificações podem ser feitas nesta descrição sem contudo se afastar do espírito e escopo da presente invenção, definida nas reivindicações que se seguem.

15 Nas reivindicações artigos tais como "um", "uma", e "o/a(s)" devem significar um ou mais de um a menos que indicado em contrário ou de alguma forma evidente pelo contexto. As reivindicações ou descrições que incluem "ou" entre um ou mais membros de um grupo são consideradas satisfeitas se um, mais de um, ou todos os membros do grupo estiverem presentes, forem empregados, ou forem de alguma forma relevantes para um dado produto ou processo a menos que indicado em contrário ou de alguma forma evidente pelo contexto. A invenção inclui modalidades nas quais exatamente um membro do grupo está presente, é empregado, ou é de alguma relevante para um dado produto ou processo. A invenção também inclui 20 modalidades nas quais mais de um, ou todos os membros do grupo estão presentes, são empregados, ou são de alguma forma relevantes para um dado produto ou processo. Além disso, deve ficar entendido que a invenção abrange todas as variações, combinações, e permutações nas quais uma ou mais limitações, elementos, cláusulas, termos descriptivos etc., de uma ou 25 mais das reividnciações ou de trechos relevantes da descrição são introduzidos em uma outra reivindicação. Por exemplo, qualquer reivindicação que seja dependente de uma outra reivindicação pode modificada para incluir 30

uma ou mais limitações encontradas em qualquer outra reivindicação que seja dependente da mesma reivindicação básica. Além disso, onde as reivindicações apresentam uma composição, deve ficar entendido que métodos de uso da composição para qualquer uma das finalidades descritas neste relatório estão incluídos, e métodos para fazer a composição de acordo com qualquer um dos métodos de produção descritos neste relatório ou outros métodos conhecidos na literatura estão incluídos, a menos que de outra forma indicado ou a menos que seja evidente para o versado na técnica que possa surgir uma contradição ou inconsistência. Por exemplo, deve ficar entendido que qualquer uma das composições da invenção pode ser usada para inibir a formação, progressão, e/ou recorrência de adesões em qualquer um dos lugares, e/ou devido a qualquer uma das causas discutidas neste relatório ou conhecidas na literatura. Também deve ficar entendido que qualquer uma das composições feitas de acordo com os métodos para preparação das composições descritas neste relatório pode ser usada para inibir a formação, progressão, e/ou recorrência de adesões em qualquer um dos lugares, e/ou devido a qualquer uma das causas discutidas neste relatório ou conhecidas na literatura. Além disso, a invenção abrange composições feitas de acordo com qualquer um dos métodos para preparação das composições descritas neste relatório.

Onde os elementos estiverem apresentados em listas, por exemplo, no formato de grupo de Markush, deve ficar entendido que cada subgrupo dos elementos também está descrito, e quaisquer elementos podem ser retirados do grupo. Também deve ser observado que o termo "compreendendo" é considerado aberto e permite a inclusão de elementos ou etapas adicionais. Deve ficar entendido que, em geral, onde a invenção, ou aspectos da invenção, é/são indicados como compreendendo elementos, aspectos, etapas etc. particulares, algumas modalidades da invenção ou alguns aspectos da invenção consistem, ou consistem essencialmente, em tais elementos, aspectos, etapas etc. A título de simplicidade essas modalidades não foram especificamente apresentadas *in haec verba* neste relatório. Portanto para cada modalidade da invenção que compreendem um ou

mais elementos, aspectos, etapas etc., a invenção também oferece modalidades que consistem ou consistem essencialmente nesses elementos, aspectos, etapas etc.

Onde faixas são dadas, os limites extremos estão incluídos. Além disso, deve ficar entendido que a menos que de outra indicado ou a menos que evidente pelo contexto e/ou pelo entendimento de um versado na técnica, os valores que são expressos como faixas podem assumir qualquer valor específico dentro das faixas estipuladas nas diferentes modalidades da invenção, com precisão da décima parte da unidade do limite inferior da faixa, a menos que o contexto dite claramente o contrário. Também deve ficar entendido que a menos que de outra forma indicado ou de alguma forma evidente pelo contexto e/ou pelo entendimento de um versado na técnica, os valores expressos como faixas podem assumir qualquer subfaixa dentro da faixa dada, onde os limites extremos são expressos com o mesmo grau de precisão como a décima parte da unidade do limite inferior da faixa.

Além disso, deve ficar entendido que qualquer modalidade particular da presente invenção pode ser explicitamente excluída de qualquer uma ou mais das reivindicações. Qualquer modalidade, elemento, aspecto, aplicação, ou aspecto das composições e/ou métodos da invenção (por exemplo, qualquer entidade anfifílica, qualquer componente de uma entidade anfifílica, qualquer polímero, qualquer agente biologicamente ativo, qualquer tensoativo, qualquer meio de dispersão, qualquer componente retardador da liberação, qualquer nanopartícula de AE ou composição compreendendo qualquer nanopartícula de AE, qualquer via ou local de administração, qualquer finalidade para a qual uma composição seja administrada etc.), pode ser excluída de qualquer uma ou mais reivindicações. A título de brevidade, todas as modalidades nas quais um ou mais elementos, aspectos, finalidades, ou aspectos estão excluídos não estão explicitamente apresentadas neste relatório.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição de nanopartículas compreendendo uma população de partículas, em que a maioria das partículas têm diâmetros entre aproximadamente 10 e aproximadamente 300 nanômetros, e em que as partículas compreendem uma ou mais entidades anfifílicas.
5
2. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a maioria das partículas têm uma faixa de diâmetros entre aproximadamente 10 e aproximadamente 250 nanômetros.
3. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 10 1, em que a maioria das partículas têm uma faixa de diâmetros entre aproximadamente 10 e aproximadamente 200 nanômetros.
4. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a maioria das partículas têm uma faixa de diâmetros entre aproximadamente 10 e aproximadamente 150 nanômetros.
- 15 5. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a maioria das partículas têm uma faixa de diâmetros entre aproximadamente 10 e aproximadamente 120 nanômetros.
6. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a maioria das partículas têm uma faixa de diâmetros entre approximadamente 10 e approximadamente 100 nanômetros.
20
7. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a maioria das partículas têm uma faixa de diâmetros entre approximadamente 10 e approximadamente 50 nanômetros.
8. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 25 1, em que a população de partículas é substancialmente livre de partículas tendo um diâmetro maior que 300 nm.
9. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 50% das partículas têm um diâmetro maior que 300 nm.
- 30 10. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 25% das partículas têm um diâmetro maior que 300 nm.

11. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 10% das partículas têm um diâmetro maior que 300 nm.
12. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 5% das partículas têm um diâmetro maior que 300 nm.
13. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 1% das partículas têm um diâmetro maior que 300 nm.
14. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a população de partículas é substancialmente livre de partículas tendo um diâmetro maior que 200 nm.
15. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 50% das partículas têm um diâmetro maior que 200 nm.
16. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 25% das partículas têm um diâmetro maior que 200 nm.
17. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 10% das partículas têm um diâmetro maior que 200 nm.
18. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 5% das partículas têm um diâmetro maior que 200 nm.
19. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 1% das partículas têm um diâmetro maior que 200 nm.
20. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a população de partículas é substancialmente livre de partículas tendo um diâmetro maior que 120 nm.
21. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 50% das partículas têm um diâmetro maior que 120 nm.

nm.

22. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 25% das partículas têm um diâmetro maior que 120 nm.

5 23. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 10% das partículas têm um diâmetro maior que 120 nm.

10 24. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 5% das partículas têm um diâmetro maior que 120 nm.

25. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que menos de 1% das partículas têm um diâmetro maior que 120 nm.

15 26. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a diferença entre o diâmetro de partícula mínimo e o diâmetro de partícula máximo não é maior que aproximadamente 600 nm.

27. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a diferença entre o diâmetro de partícula mínimo e o diâmetro de partícula máximo não é maior que aproximadamente 500 nm.

20 28. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a diferença entre o diâmetro de partícula mínimo e o diâmetro de partícula máximo não é maior que aproximadamente 400 nm.

25 29. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a diferença entre o diâmetro de partícula mínimo e o diâmetro de partícula máximo não é maior que aproximadamente 300 nm.

30. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a diferença entre o diâmetro de partícula mínimo e o diâmetro de partícula máximo não é maior que aproximadamente 200 nm.

30 31. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a diferença entre o diâmetro de partícula mínimo e o diâmetro de partícula máximo não é maior que aproximadamente 100 nm.

32. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindica-

ção 1, em que a diferença entre o diâmetro de partícula mínimo e o diâmetro de partícula máximo não é maior que aproximadamente 50 nm.

33. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio de 300 nm.

5 34. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio de 200 nm.

35. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio de 150 nm.

36. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio de 100 nm

10 37. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio de 75 nm.

38. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio de 50 nm.

15 39. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio que varia entre 100 - 300 nm.

40. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio que varia entre 50 - 250 nm.

20 41. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio que varia entre 60 - 200 nm.

42. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio que varia entre 65 - 150 nm.

43. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio que varia entre 70 - 130 nm.

30 44. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio que varia entre 80 - 110 nm.

45. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas têm um diâmetro médio que varia entre 90 - 100 nm.

5 46. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas é substancialmente livre de solventes tóxicos.

47. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas compreende menos de 50% de solventes tóxicos.

10 48. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas compreende menos de 25% de solventes tóxicos.

15 49. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas compreende menos de 10% de solventes tóxicos.

50. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas compreende menos de 5% de solventes tóxicos.

20 51. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas compreende menos de 1% de solventes tóxicos.

52. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas é estável.

25 53. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a maioria das partículas são estáveis por pelo menos 1 dia.

54. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a maioria das partículas são estáveis por pelo menos 2 semanas.

30 55. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a maioria das partículas são estáveis por pelo menos 2 meses.

56. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindica-

* ção 1, em que a maioria das partículas são estáveis por pelo menos 5 meses.

5 57. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a maioria das partículas são estáveis por pelo menos 12 meses.

58. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a maioria das partículas são estáveis por pelo menos 24 meses.

10 59. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por exposição a uma alta força de cisalhamento.

60. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por exposição a uma alta força de cisalhamento por menos de 10 minutos.

15 61. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por exposição a uma alta força de cisalhamento por menos de 2 minutos.

20 62. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por exposição a uma alta força de cisalhamento por menos de 1 minuto.

63. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por exposição a uma alta força de cisalhamento por menos de 30 segundos.

25 64. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por exposição a pressões maiores que 20,68 MPa (3.000 psi).

65. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por exposição a pressões maiores que 68,95 MPa (10.000 psi).

30 66. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por exposição a pressões maiores que 124,10 MPa (18.000 psi).

67. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por exposição a pressões maiores que 165,47 MPa (24.000 psi)).

5 68. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por microfluidificação.

69. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por microfluidificação a uma pressão maior que 20,68 MPa (3.000 psi).

10 70. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por microfluidificação a uma pressão maior que 68,95 MPa (10.000 psi).

15 71. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por microfluidificação a uma pressão maior que 124,10 MPa (18.000 psi).

72. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por microfluidificação a uma pressão maior que 165,47 MPa (24.000 psi)).

20 73. A composição de nanopartículas de acordo com qualquer uma das reivindicações 68 a 72, em que a microfluidificação é microfluidificação em um único passe.

74. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por cavitação.

25 75. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas foi gerada por homogeneização a alta pressão.

76. Composição de nanopartículas, em que a entidade anfifílica é como descrita de forma genérica.

30 77. Composição de nanopartículas, em que a entidade anfifílica é como descrita de forma específica.

78. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição compreende um ou mais agentes biológicos.

mente ativos.

79. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 78, em que o agente biologicamente ativo é encapsulado nas partículas.

80. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 78, em que o agente biologicamente ativo é alojado na membrana micelar.

81. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 78, em que o agente biologicamente ativo é associado à superfície da partícula.

82. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 78, em que o agente biologicamente ativo é uma ou mais toxinas botulínicas.

83. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 82, em que a toxina botulínica é selecionada do grupo que compreende tipo A, tipo B, tipo C₁, tipo C₂, tipo D, tipo F, e tipo G.

84. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 82, em que a toxina botulínica é toxina botulínica tipo A.

85. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 82, em que a toxina botulínica é um complexo de toxinas botulínicas.

86. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 85, em que o complexo de toxinas botulínicas compreende uma proteína hemaglutinina atóxica e uma proteína não hemaglutinina atóxica.

87. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 82, em que a toxina botulínica é incorporada em uma matriz de albumina.

88. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 87, em que a albumina é albumina humana.

89. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 82, em que a toxina botulínica é uma proteína de toxina botulínica purificada ou um fragmento da mesma.

90. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 82, em que a toxina botulínica é isolada, ou substancialmente isolada,

de outras proteínas.

91. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 82, em que a toxina botulínica é isolada, ou substancialmente isolada, de proteínas atóxicas.

5 92. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 82, em que a toxina botulínica é isolada de *Clostridium botulinum*.

93. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 82, em que a toxina botulínica é quimicamente sintetizada.

10 94. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 82, em que a toxina botulínica é produzida de forma recombinante.

95. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas pode penetrar na pele sem alterar ou mudar a pele.

15 96. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas pode penetrar na pele sem o uso de aumentadores de penetração na pele ou abrasivos.

97. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas pode penetrar na camada superior da pele sem o uso de aumentadores de penetração na pele ou abrasivos.

98. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 97, em que a camada superior da pele é a superfície do estrato córneo.

99. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 97, em que a camada superior da pele inclui poros dérmicos.

25 100. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 97, em que a camada superior da pele inclui glândulas dérmicas.

101. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas pode penetrar na pele sem o uso de aumentadores de penetração químicos ou abrasivos.

30 102. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas pode penetrar na pele sem o uso de aumentadores de penetração mecânicos ou abrasivos.

103. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas podem penetrar na pele sem alterar ou mudar a pele.

104. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que as partículas podem penetrar na pele sem o uso de aumentadores de penetração na pele ou abrasivos.

105. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a toxina botulínica pode penetrar na pele sem alterar ou mudar a pele.

106. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a toxina botulínica pode penetrar na pele sem o uso de aumentadores de penetração na pele ou abrasivos.

107. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas compreende um óleo.

108. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 107, em que o óleo é selecionado do grupo que consiste em óleos de amêndoia, caroço de damasco, abacate, babaçu, bergamota, semente de groselha-preta, borragem, cade, camomila, canola, cominho-armênio, carnaúba, rícino, canela, manteiga de cacau, coco, fígado de bacalhau, café, milho, semente de algodão, emu, eucalipto, enotera, peixe, semente de linhaça, geraniol, abóbora, semente de uva, avelã, hissopo, miristato de isopropíla, jojoba, noz kukui, lavandina, lavanda, limão, litsea cubeba, macadâmia, malva, caroço de manga, Limnanthes, visão, noz-moscada, oliva, laranja, Hoplostethus atlanticus, palma, caroço de palma, caroço de pêssego, amendoim, semente de papoula, semente de abóbora, semente de colza, farelo de arroz, alecrim, açafrão, sândalo, sasquana, segurelha, sanguinheiro do mar, gergelim, manteiga de carité, silicone, soja, girassol, chá-da-índia, cardo, tsubaki, vetiver, avelã, e gérmen de trigo, e combinações dos mesmos.

109. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 107, em que o óleo é óleo de soja.

110. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 107, em que o óleo é selecionado do grupo que consiste em estearato

de butila, triglicerídeo caprílico, triglicerídeo cáprico, ciclometicona, sebacato de dietila, dimeticona 360, miristato de isopropila, óleo mineral, octildodecanol, álcool oleílico, óleo de silicone, Labrafac WL 1349, e combinações dos mesmos.

5 111. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas não contém mais de um óleo.

112. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas compreende um tensoativo.

10 113. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 112, em que o tensoativo é um detergente não-iônico.

114. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 112, em que o tensoativo é selecionado do grupo que consiste em fosfoglicerídeos; fosfatidilcolinas, dipalmitoil fosfatidilcolina (DPPC); dioleilfosfa-

15 tidil etanolamina (DOPE); dioleioxipropiltrietilamônio (DOTMA); dioleoifosfatidilcolina; colesterol; éster de colesterol; diacilglicerol; succinato de diacilglicerol; difosfatidil glicerol (DPPG); hexanodecanol; álcoois graxos tais como polietileno glicol (PEG); polioxietileno-9-lauril éter; um ácido graxo tensoativo, tal como ácido palmítico ou ácido oleico; ácidos graxos; monoglicerídeos

20 de ácidos graxos; diglycerídeos de ácidos graxos; amidas de ácidos graxos; glicocolato de trioleato de sorbitan (Span 85); monolaurato de sorbitan (Span 20); polissorbato 20 (Tween-20); polissorbato 60 (Tween-60); polissorbato 65 (Tween-65); polissorbato 80 (Tween-80); polissorbato 85 (Tween-85); mono-

25 estearato de polioxietileno; surfactina; um poloxômero; um éster de ácido graxo de sorbitan tal como trioletato de sorbitan; lecitina; lisolecitina; fosfatidilserina; fosfatidilinositol; esfingomielina; fosfatidiletanolamina (cefalina); cardiolipina; ácido fosfatídico; cerebrosídeos; fosfato de dicetila; dipalmitoil-

30 fosfatidilglicerol; estearilamina; dodecilamina; hexadecila-amina; palmitato de acetila; ricinoleato de glicerol; esterato de hexadecila; miristato de isopropila; tiloxapol; poli(etileno glicol)5000- fosfatidiletanolamina; monostearato de poli(etileno glicol)400; fosfolipídios; detergentes sintéticos e/ou naturais tendo propriedades tensoativas; desoxicolatos; ciclodextrinas; sais caotrópicos;

agentes de pareamento de íons; e combinações dos mesmos.

115. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 112, em que o tensoativo é Tween 80.

116. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas não contém mais de um tensoativo.

117. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas compreende um óleo e um tensoativo.

10 118. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que o óleo e o tensoativo estão presentes em uma proporção que varia de 0,5 - 2,0.

119. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que o óleo e o tensoativo estão presentes em uma proporção que varia de 0,5 - 1,5.

120. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que o óleo e o tensoativo estão presentes em uma proporção que varia de 0,5 - 1,0.

121. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que o óleo e o tensoativo estão presentes em uma proporção que varia de 1,0 - 2,0.

122. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que o óleo e o tensoativo estão presentes em uma proporção que varia de 1,5 - 2,0.

25 123. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que a percentagem de óleo na composição de nanopartículas varia de 1% - 30%.

124. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que a percentagem de óleo na composição de nanopartículas varia de 1% - 20%.

30 125. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que a percentagem de óleo na composição de nanopartículas

varia de 1% - 10%.

126. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que a percentagem de óleo na composição de nanopartículas é aproximadamente 8%.

5 127. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que a percentagem de óleo na composição de nanopartículas é aproximadamente 5%.

10 128. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que a percentagem de tensoativo na composição de nanopartículas varia de 1% - 30%.

129. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que a percentagem de tensoativo na composição de nanopartículas varia de 1% - 20%.

15 130. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que a percentagem de tensoativo na composição de nanopartículas varia de 1% - 10%.

131. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que a percentagem de tensoativo na composição de nanopartículas é aproximadamente 8%.

20 132. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que a percentagem de tensoativo na composição de nanopartículas é aproximadamente 5%.

25 133. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que o óleo é selecionado do grupo que consiste em óleos de amêndoas, caroço de damasco, abacate, babaçu, bergamota, semente de groselha-preta, borragem, cade, camomila, canola, cominho-armênio, carnaúba, rícino, canela, manteiga de cacau, coco, fígado de bacalhau, café, milho, semente de algodão, emu, eucalipto, enotera, peixe, semente de linhaça, geraniol, abóbora, semente de uva, avelã, hissopo, miristato de isopropílica, jojoba, noz kukui, lavandina, lavanda, limão, litsea cubeba, macadâmia, malva, caroço de manga, Limnanthes, visão, noz-moscada, oliva, laranja, Hoplostethus atlanticus, palma, caroço de palma, caroço de pêssego, amen-

doim, semente de papoula, semente de abóbora, semente de colza, farelo de arroz, alecrim, açafrão, sândalo, sasquana, segurelha, sanguinheiro do mar, gergelim, manteiga de carité, silicone, soja, girassol, chá-da-índia, cardo, tsubaki, vetiver, avelã, e gérmens de trigo, e combinações dos mesmos.

5 134. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que o óleo é óleo de soja.

10 135. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que o óleo é selecionado do grupo que consiste em estearato de butila, triglicerídeo caprílico, triglicerídeo cáprico, ciclometicona, sebacato de dietila, dimeticona 360, miristato de isopropila, óleo mineral, octildodecanol, álcool oleílico, óleo de silicone, Labrafac WL 1349, e combinações dos mesmos.

136. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que o tensoativo é um detergente não-iônico.

15 137. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que o tensoativo é selecionado do grupo que consiste em fosfoglicerídeos; fosfatidicolinas; dipalmitoil fosfatidilcolina (DPPC); dioleilfosfatidil etanolamina (DOPE); dioleioxipropiltrietilamônio (DOTMA); dioleoifosfatidilcolina; colesterol; éster de colesterol; diacilglicerol; succinato de diacilglicerol; difosfatidil glicerol (DPPG); hexanodecanol; álcoois graxos tais como polietileno glicol (PEG); polioxietileno-9-lauril éter; um ácido graxo tensoativo, tal como ácido palmítico ou oleico; ácidos graxos; monoglycerídeos de ácidos graxos; diglycerídeos de ácidos graxos; amidas de ácidos graxos; sorbitan trioleato (Span 85) glicocolato; sorbitan monolaurato (Span 20); polissorbato 20 (Tween-20); polissorbato 60 (Tween-60); polissorbato 65 (Tween-65); polissorbato 80 (Tween-80); polissorbato 85 (Tween-85); polioxietileno monoestearato; surfactina; um poloxômero; um éster de ácido graxo de sorbitan tal como trioleato de sorbitan; lecitina; lisolecitina; fosfatidilserina; fosfatidilinositol; esfingomielina; fosfatidiletanolamina (cephalin); cardiolipina; 20 ácido fosfatídico; cerebrosídeos; fosfato de dicetila; dipalmitoilfosfatidilglicerol; estearilamina; dodecilamina; hexadecila-amina; palmitato de acetila; ricinoleato de glicerol; estearato de hexadecila; miristato de isopropila; tiloxapol;

poli(etileno glicol)5000-fosfatidiletanolamina; poli(etileno glicol)400-monoestearato; fosfolipídios; detergentes sintéticos e/ou naturais tendo excelentes propriedades tensoativas; desoxicolatos; ciclodextrinas; sais catrópicos; agentes de pareamento de íons; e combinações dos mesmos.

5 138. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 117, em que o tensoativo é Tween 80.

139. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas compreende partículas oleosas que são dispersadas em um meio de dispersão aquoso.

10 140. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 139, em que o meio de dispersão aquoso é selecionado do grupo que consiste em água, solução salina, solução salina tamponada com fosfato, álcoois de cadeia curta, 5% de dextrose, solução de Ringer, injeção de Ringer lactada, injeção de Ringer lactada mais 5% de dextrose, injeção de Ringer acilada, Normosol-M, Isolyte E, e combinações dos mesmos.

15 141. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 139, em que o meio de dispersão aquoso é água.

20 142. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 139, em que as partículas oleosas compreendem um óleo selecionado do grupo que consiste em óleo de amêndoia, caroço de damasco, abacate, babaçu, bergamota, semente de groselha-preta, borragem, cade, camomila, canola, cominho-armênio, carnaúba, rícino, canela, manteiga de cacau, coco, fígado de bacalhau, café, milho, semente de algodão, emu, eucalipto, enotera, peixe, semente de linhaça, geraniol, abóbora, semente de uva, aveia, hissopo, miristato de isopropila, jojoba, noz kukui, lavandina, lavanda, limão, litsea cubeba, macadâmia, malva, caroço de manga, meadowfoam seed, visão, noz-moscada, oliva, laranja, Hoplostethus atlanticus, palma, caroço de palma, caroço de pêssego, amendoim, semente de papoula, semente de abóbora, semente de colza, farelo de arroz, alecrim, açafrão, sândalo, sasquana, segurelha, sanguinheiro do mar, gergelim, manteiga de carité, silicone, soja, girassol, chá-da-índia, cardo, tsubaki, vetiver, avelã, ou gérmen de trigo.

143. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 139, em que as partículas oleosas compreendem óleo de soja.

144. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 139, em que as partículas oleosas compreendem um óleo selecionado do grupo que consiste em estearato de butila, triglicerídeo caprílico, triglicerídeo cáprico, ciclometicona, sebacato de dietila, dimeticona 360, miristato de isopropila, óleo mineral, octildodecanol, álcool oleílico, óleo de silicone, Labrafac WL 1349, e combinações dos mesmos.

145. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 1, em que a composição de nanopartículas compreende partículas aquosas que são dispersadas em um meio de dispersão oleoso.

146. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 145, em que as partículas aquosas compreendem uma substância aquosa selecionada do grupo que consiste em água, solução salina, solução salina tamponada com fosfato, álcoois de cadeia curta, 5% de dextrose, solução de Ringer, injeção de Ringer lactada, injeção de Ringer lactada mais 5% de dextrose, injeção de Ringer acilada, ou Normosol-M, Isolyte E.

147. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 145, em que as partículas aquosas compreendem água.

148. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 145, em que o meio de dispersão oleoso é selecionado do grupo que consiste em óleo de amêndoas, caroço de damasco, abacate, babaçu, bergamota, semente de groselha-preta, borragem, cade, camomila, canola, coimbro-armênio, carnaúba, rícino, canela, manteiga de cacau, coco, fígado de bacalhau, café, milho, semente de algodão, emu, eucalipto, enotera, peixe, semente de linhaça, geraniol, abóbora, semente de uva, avelã, hissopo, miristato de isopropila, jojoba, noz kukui, lavandina, lavanda, limão, litsea cubeba, macadâmia, malva, caroço de manga, meadowfoam seed, visão, noz-moscada, oliva, laranja, Hoplostethus atlanticus, palma, caroço de palma, caroço de pêssego, amendoim, semente de papoula, semente de abóbora, semente de colza, farelo de arroz, alecrim, açafrão, sândalo, sasquana, segurelha, sanguinheiro do mar, gergelim, manteiga de carité, silicone,

soja, girassol, chá-da-índia, cardo, tsubaki, vetiver, avelã, e gérmen de trigo, e combinações dos mesmos.

149. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 145, em que o meio de dispersão oleoso é óleo de soja.

5 150. Composição de nanopartículas de acordo com a reivindicação 145, em que o óleo é selecionado do grupo que consiste em estearato de butila, triglicerídeo caprílico, triglicerídeo cáprico, ciclometicona, sebacato de dietila, dimeticona 360, miristato de isopropila, óleo mineral, octildodecanol, álcool oleílico, óleo de silicone, Labrafac WL 1349, e combinações dos
10 mesmos.

151. Composição de nanopartículas compreendendo uma população de partículas tendo diâmetros entre aproximadamente 10 e aproximadamente 300 nanômetros, em que a referida composição de nanopartículas compreende pelo menos uma entidade anfifílica, e em que a entidade anfifí-

15 lica compreende um componente hidrofílico e um componente hidrofóbico.

152. Composição de nanopartículas compreendendo uma população de partículas tendo diâmetros entre aproximadamente 10 e aproximadamente 300 nanômetros, em que a composição de nanopartículas foi gerada por exposição a uma alta força de cisalhamento; em que a referida composição de nanopartículas compreende pelo menos uma entidade anfifílica, e em que a entidade anfifílica compreende um componente hidrofílico e um componente hidrofóbico; e em que a composição de nanopartículas compreende pelo menos um agente biologicamente ativo.

20 153. Composição de nanopartículas compreendendo:
uma população de partículas tendo diâmetros entre aproximadamente 10 e aproximadamente 300 nanômetros;

uma entidade anfifílica compreendendo um componente do tipo pululan e um componente do tipo policaprolactona;

e pelo menos um agente biologicamente ativo;

30 em que a composição de nanopartículas foi gerada por exposição a uma alta força de cisalhamento.

154. Composição farmacêutica compreendendo qualquer uma

das composições de nanopartículas de acordo com as reivindicações 1 ou 151 - 153.

155. Composição de acordo com a reivindicação 154, em que a composição é selecionada do grupo que consiste em um creme, uma loção, 5 um gel, uma pomada, um spray, um pó, um emoliente, e combinações dos mesmos.

156. Composição de acordo com a reivindicação 154, em que a composição é um creme.

157. Método de administração de um agente biologicamente ativo por via transdérmica, a um indivíduo, compreendendo as etapas de:

(a) fornecer uma composição compreendendo um agente biologicamente ativo; e

(b) administrar a composição à pele do indivíduo.

158. Método de acordo com a reivindicação 157, em que a composição é administrada por via transdérmica usando um emplastro adesivo.

159. Método de acordo com a reivindicação 157, em que a composição é administrada por via transdérmica usando uma espátula.

160. Método de acordo com a reivindicação 157, em que a composição é administrada por via transdérmica usando um cotonete.

161. Método de acordo com a reivindicação 157, em que a composição é administrada por via transdérmica usando uma seringa sem agulha.

162. Método de acordo com a reivindicação 157, em que a composição é administrada por via transdérmica usando um dedo protegido com luva.

163. Método de acordo com a reivindicação 157, em que a composição é administrada por via transdérmica usando um dedo desprotegido.

164. Método de acordo com a reivindicação 157, em que a composição é administrada por via transdérmica usando um dispositivo que permite a aplicação da composição a um local direcionado na pele sem aplicar a composição a locais não direcionados na pele.

165. Método de acordo com a reivindicação 157, em que toda a

toxina botulínica penetra na pele.

166. Método de acordo com a reivindicação 157, em que pelo menos 99% do agente biologicamente ativo penetra na pele.

167. Método de acordo com a reivindicação 157, em que pelo 5 menos 95% do agente biologicamente ativo penetra na pele.

168. Método de acordo com a reivindicação 157, em que pelo menos 90% do agente biologicamente ativo penetra na pele.

169. Método de acordo com a reivindicação 157, em que pelo menos 75% do agente biologicamente ativo penetra na pele.

10 170. Método de acordo com a reivindicação 157, em que pelo menos 50% do agente biologicamente ativo penetra na pele.

171. Método de acordo com a reivindicação 157, em que pelo menos 25% do agente biologicamente ativo penetra na pele.

15 172. Método de acordo com a reivindicação 153, em que pelo menos 10% do agente biologicamente ativo penetra na pele.

173. Método de acordo com a reivindicação 157, em que pelo menos 1% do agente biologicamente ativo penetra na pele.

20 174. Método de acordo com a reivindicação 157, em que a composição é administrada para tratar rugas, linhas faciais, e/ou linhas do pescoço.

175. Método de acordo com a reivindicação 174, em que as rugas, linhas faciais, e/ou linhas do pescoço são selecionadas do grupo que consiste em linhas faciais hipercinéticas, rugas faciais, feixes de plastíma, faixas decotadas, e combinações dos mesmos.

25 176. Método de acordo com a reivindicação 175, em que as rugas faciais envolvem uma ou mais das regiões da testa, região glabellar, região frontal, região temporal, região da face, região periorbital.

177. Método de acordo com a reivindicação 157, em que a composição é administrada para melhorar a aparência da pele de um indivíduo.

30 178. Método de administração de um agente biologicamente ativo por via transdérmica a um indivíduo, compreendendo as etapas de:

(a) fornecer:

- (i) um indivíduo; e
• (ii) uma composição compreendendo a composição de nanopartículas como definido em qualquer uma das reivindicações 1 ou 151 - 153; e
- 5 (b) administrar a composição à pele do indivíduo.

179. Método para tratamento de rugas, linhas faciais, e/ou linhas do pescoço, compreendendo as etapas de:

- (a) fornecer:
10 (i) um indivíduo apresentando sintomas de rugas, linhas faciais, e/ou linhas do pescoço; e
(ii) uma composição compreendendo a composição de nanopartículas como definido em qualquer uma das reivindicações 1 ou 151 - 153; and
15 (b) administrar a composição à pele do indivíduo para que os sintomas sejam reduzidos.

180. Método para retardar o aparecimento de rugas, linhas faciais, e/ou linhas do pescoço, compreendendo as etapas de:

- (a) fornecer:
20 (i) um indivíduo não apresentando sintomas de rugas, linhas faciais, e/ou linhas do pescoço; e
(ii) uma composição compreendendo a composição de nanopartículas como definido em qualquer uma das reivindicações 1 ou 151 - 153; e
25 (b) administrar a composição à pele do indivíduo para o aparecimento dos sintomas sejam retardados.

181. Método para produzir uma composição de nanopartículas, compreendendo as etapas de:

fornecer uma pré-mistura compreendendo uma ou mais entidades anfifílicas; e

30 submeter a pré-mistura à homogeneização com alta força de cisalhamento ou à alta pressão por um período de tempo e em condições que obtenham uma composição de nanopartículas como definido em qual-

quer uma das reivindicações 1 ou 151 - 153.

182. Método de acordo com a reivindicação 181, em que a pré-mistura compreende um agente biologicamente ativo.

183. Método de acordo com a reivindicação 181, em que a pré-mistura compreende um óleo.

184. Método de acordo com a reivindicação 181, em que a pré-mistura compreende um tensoativo.

185. Método para a produção de uma composição de nanopartículas, compreendendo as etapas de:

- 10 (a) fornecer uma pré-mistura compreendendo uma entidade anfifílica compreendendo um componente do tipo pululan e um componente do tipo policaprolactona;
- (b) formar uma solução compreendendo a pré-mistura; e
- (c) submeter a pré-mistura à homogeneização com alta força de cisalhamento ou à alta pressão por um período de tempo e em condições que obtenham uma composição de nanopartículas como definido em qualquer uma das reivindicações 1 ou 151 - 153.

186. Método para a produção de uma composição de nanopartículas, compreendendo as etapas de:

- 20 (a) fornecer uma pré-mistura compreendendo:
 - (i) uma entidade anfifílica compreendendo um componente do tipo pululan e um componente do tipo policaprolactona; e
 - (ii) um agente biologicamente ativo;
- (b) formar uma solução compreendendo a pré-mistura; e
- 25 (c) submeter a solução à homogeneização com alta força de cisalhamento ou à alta pressão por um período de tempo e em condições que obtenham uma composição de nanopartículas como definido em qualquer uma das reivindicações 1 ou 151 - 153;
em que o óleo e o tensoativo estão presentes em uma proporção que varia entre 0,5 - 2,0 (em peso); e em que a alta força de cisalhamento é gerada por microfluidificação.

RESUMO

Patente de Invenção: "NANOPARTÍCULAS DE ENTIDADES ANFIFÍLICAS".

A presente invenção refere-se composições de nanopartículas que compreende nanopartículas de AE. A presente invenção fornece nanopartículas de AE compreendendo uma ou mais entidades anfifílicas e composições farmacêuticas compreendendo nanopartículas de AE. A presente invenção fornece métodos para a produção de nanopartículas de AE. A presente invenção fornece métodos para distribuição de um agente biologicamente ativo a um indivíduo por de nanopartículas de AE contendo um agente biologicamente ativo a um indivíduo.