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

(21) **PI0709352-7 A2**

BRPI0709352A2

(22) Data de Depósito: 13/03/2007
(43) Data da Publicação: 12/07/2011
(RPI 2114)

(51) Int.Cl.:
A61K 9/51 2006.01

(54) Título: **MÉTODO PARA PREPARAR UM SISTEMA DE DIRECIONAMANTO DE DROGA, SISTEMA DE DIRECIONAMENTO DE DROGA, MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE UM DOENÇA OU DE UMA DESORDEM DO SISTEMA NEVORSO CENTRAL DE UM MAMÍFERO E USO DO SISTEMA DE DIRECIONAMENTO DE DROGA**

(30) Prioridade Unionista: 24/03/2006 DE 1020060135318

(73) Titular(es): LTS LOHMANN THERAPIE-SYSTEME AG

(72) Inventor(es): ALEXANDER KHALANSKIY, Jörg Kreuter, OLGA MAKSIMENKO, SVETLANA GELPERINA

(74) Procurador(es): Martinez & Kneblewski S/C Ltda.

(86) Pedido Internacional: PCT EP2007002198 de 13/03/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/110152de 04/10/2007

(57) Resumo: MÉTODO PARA PREPARAR UM SISTEMA DE DIRECIONAMENTO DE DROGA, SISTEMA DE DIRECIONAMENTO DE DROGA, MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE UMA DOENÇA OU DE UMA DESORDEM DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE UM MAMÍFERO E USO DO SISTEMA DE DIRECIONAMENTO DE DROGA A presente invenção refere-se a um sistema de direcionamento de droga para administrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, no qual o sistema de direcionamento de droga compreende nano partículas feitas de of poli (DL-lactida) e/ou poli (DL-lactida-co-gíicoíida), uma substância farmacologicamente ativa a qual é absorvida pela, adsorvida pela, ou incorporada nas nano partículas, e tanto contém TPGS ou compreende um revestimento de surfactante de pluronic 188 depositado sobre as nano partículas carregadas com droga, aos métodos de produção do sistema de direcionamento de droga, e ao uso do sistema de direcionamento de droga para tratar uma doença ou uma desordem do sistema nervoso central.

"MÉTODO PARA PREPARAR UM SISTEMA DE DIRECIONAMENTO DE DROGA, SISTEMA DE DIRECIONAMENTO DE DROGA, MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE UMA DOENÇA OU DE UMA DESORDEM DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE UM MAMÍFERO E USO DO SISTEMA DE DIRECIONAMENTO DE DROGA"

A presente invenção refere-se a sistemas para direcionar substâncias farmacologicamente ativas condunzindo-as ao sistema nervoso central de um mamífero. Particularmente, a presente invenção refere-se a sistemas de direcionamento de drogas nano particuladas as quais são capazes de atravessar a barreira sanguínea cerebral de um mamífero. Mais particularmente, a presente invenção é relativa a nano partículas carregadas com drogas com base em polilactida e/ou polilactida-co-glicolida para o tratamento de doenças ou de desordens do sistema nervoso central, em particular para o tratamento de câncer neuronal.

As doenças e as desordens do sistema nervoso central podem ser tratadas pela administração de drogas que têm um impacto sobre a função do sistema nervoso. Essas drogas são, usualmente, dadas a um paciente que precisa da mesma por meio de uma administração oral convencional ou por meio de uma injeção. Infelizmente muitas drogas tais como adenosina, β-endorfina, análogos sintéticos de peptídeos endógenos, amino ácidos excitantes e inibidores e fatores tróficos não atravessam a barreira sanguínea cerebral de forma alguma ou apenas atravessam em quantidades insuficientes para que sejam terapeuticamente eficientes. Tais drogas são apenas terapeuticamente efetivas quando são administradas diretamente no cérebro, por exemplo por meio de uma infusão direta no sistema nervoso central.

Como uma alternativa à infusão direta no sistema nervoso central, a patente norte-americana No. US 6.117.454 sugere um método para transmitir substâncias farmaceuticamente ativas por

toda a barreira sanguínea cerebral de um mamífero, no qual as nano partículas serão usadas para direcionar as drogas ou os agentes de diagnóstico para o sistema nervoso central atravessando a barreira sanguínea cerebral. Segundo a patente norte-americana No. US 6.117.454, uma droga é adicionada durante ou depois da polimerização de monômeros adequados tais como cianoacrilato de butila para serem tanto incorporados no interior de ou absorvidos por sobre a superfície das nano partículas de cianoacrilato de polibutila resultante. É dito que esses complexos de droga em nano partículas são capazes de atravessar a barreira sanguínea cerebral e são capazes de direcionar a droga para o sistema nervoso central se as mesmas forem revestidas com um surfactante apropriado.

Reivindica-se o fato que polyoxyetilene 20 sorbitan monolaurate (Tween® 20), polyoxyetilene 20 sorbitan monopalmitate (Tween® 40), polyoxyetilene 20 sorbitan monostearate (Tween® 60), polyoxyetilene 20 sorbitan monooleate (Tween® 80), e as misturas dos mesmos são surfactantes apropriados que permitem com que as nano partículas carregadas com a droga cianoacrilato de polibutila atravessem a barreira sanguínea cerebral.

Propõe-se por meio deste documento que, basicamente, qualquer droga poderia ser incorporada na ou poderia ser ligada as nano partículas revestidas com um surfactante e ser liberada no cérebro sem a necessidade de alterar a estrutura da droga. Daí, portanto, aparentemente a patente norte-americana No. US 6.117.454 proporciona o primeiro método universal de direcionar uma droga ao sistema nervoso central atravessando a barreira sanguínea cerebral.

As preocupações e questionamentos sobre a probabilidade de efeitos colaterais dos surfactantes usados para revestir as nano partículas de cianoacrilato de polibutila

resultante e o desejo para simplificar o processo de produção, levaram ao desenvolvimento de um método simplificado e potencialmente menos tóxico de fabricação das nano partículas conforme é revelado no pedido de patente pedido de patente internacional publicado sob o No. WO 98/56361.

O pedido de patente pedido de patente internacional publicado sob o No. WO 98/56361 ensina que os surfactantes não são mais necessários se as nano partículas são preparadas usando Dextran 12.000 ou Polysorbate 85 (polyoxyetilene 20 sorbitan trioleate; Tween® 85) como estabilizadores durante a polimerização dos monômeros de butilacianoacrilato. Foi mostrado que dalargin sendo absorvido por sobre as nano partículas de polibutilacianoacrilato estabilizadas podem atravessar a barreira sanguínea cerebral, e que amitriptilina sendo absorvida pelas nano partículas de polisorbato 85 estabilizada, acumula concentrações maiores no cérebro do que a amitriptilina propriamente dita.

Todavia, ainda há uma demanda para sistemas alternativos de nano partículas carregadas com drogas para direcionar drogas ao sistema nervoso central de um mamífero por toda a barreira sanguínea cerebral, com o objetivo de aperfeiçoar, uma ou mais dos seguintes: eficácia, especificidade, toxicidade, e simplicidade da preparação.

É portanto um objetivo da presente invenção proporcionar um sistema para direcionar drogas aperfeiçoadas para a administração de uma substância farmacologicamente ativa no sistema nervoso central de um mamífero por toda a barreira sanguínea cerebral deste mamífero.

Este objetivo é realizado por meio de um sistema de direcionamento de drogas compreendendo nano partículas com base em poli (DL-lactida) (PLA) e/ou poli (DL-lactida-co-glicolida)

(PLGA), no qual uma substância farmacologicamente ativa é absorvida na, adsorvida na, e/ou incorporada nas nano partículas, e no qual as nano partículas tanto contêm TPGS ou compreendem um revestimento surfactante de poloxamer 188 que é depositado sobre as nano partículas carregadas com drogas.

Deve ser subentendido que o termo "nano partículas carregadas com drogas" conforme aqui usado refere-se a nano partículas compreendendo uma substância farmacologicamente ativa. Uma substância farmacologicamente ativa pode ser tanto um agente terapêutico ou um agente de diagnóstico. Daí, portanto, as "nano partículas carregadas com drogas" da invenção compreendem pelo menos um agente terapêutico e/ou pelo menos um agente de diagnóstico sendo absorvido na, adsorvido na, ou incorporado as referidas nano partículas.

O termo "barreira sanguínea cerebral" conforme aqui usado refere-se à barreira sanguínea cerebral tal como, por exemplo, o endotélio dos vasos cerebrais, a membrana basal e as células neurogliais. A barreira sanguínea cerebral funciona como algo para controlar a transferência de substâncias no cérebro. O termo "barreira sanguínea cerebral" conforme aqui usado refere-se à barreira sanguínea espinal e a barreira sanguínea da retina também.

Os polilactidas (PLA), também chamados de ácidos polilactidas, são poliésteres com base em ácido láctico. Os polilactidas são ácidos poli hidróxidos. Eles são bio compatíveis e são biodegradáveis.

As propriedades dos polilactidas dependem, principalmente, do seu peso molecular, grau de cristalinidade, e da porção dos copolímeros, se for aplicável. A temperatura de transição de vidro, a temperatura de fusão, a potência de tensão e

o módulo E dos polilactidas aumenta, mas a quebra de alongamento é reduzida conforme o peso molecular dos polilactidas aumenta.

Os polilactidas podem ser obtidos por meio de polimerização de abertura do anel do lactida. A polimerização da abertura do anel é desempenhada em temperaturas entre 140 e 180° C na presença de um catalista de octoato estanoso. Os polilactidas com um alto peso molecular podem ser facilmente produzidos por meio deste método.

Em adição, polilactidas com um alto peso moleculares e puros podem ser diretamente gerados a partir de ácido láctico por meio da assim chamada poli condensação.

Polilactida coglicolidas (PLGA) são polímeros biodegradáveis que consistem de ácido lático ligado a ácido glicólico, as respectivas porcentagens dos quais desempenham uma grande função na taxa de liberação da droga. A razão de lactida para glicólico pode ser a partir de 90 : 10 a 10 : 90, com razões de a partir de 20 : 80 a 80 : 20 sendo preferidas e razões de 40 : 60 a 60 : 40 sendo ainda mais preferidas, e a razão de 50 : 50 sendo a mais preferida de todas. Lactida é oticamente ativa, e quaisquer proporções de isômeros D e L podem estar presentes, variando a partir de D-lactida puro a L-lactida puro, com os racemates compreendendo 50% de D-lactida e 50% de L-lactida.

Poloxameros são co polímeros em blocos não iônicos de polioxietileno-polioxypropileno com a fórmula geral $HO(C_2H_4O)_a(-C_3H_6O)_b(C_2H_4O)_aH$. Eles encontram-se disponíveis em graus diferentes que varia a partir de líquidos até sólidos. Os poloxameros são usados como agentes emulsificantes, agentes solubilizadores, surfactantes, e como agentes de umidade para os antibióticos.

Poloxamer 188 (Pluronic® F68 (BASF Corp.)) é um surfactante de co polímero em bloco di funcional que termina em

grupos de hidroxila primária. É um surfactante não iônico sendo relativamente não tóxico. O Poloxamer 188 tem um peso molecular médio de 8,400, uma viscosidade de 1,000 cps a 77° C, um ponto de turvação (10% aquoso) de >100° C, e um valor de HLB de >24.

Poloxamer 185 (Pluronic® P65 (BASF Corp.)) é um surfactante de co polímero em bloco di funcional que termina em grupos de hidroxila primária. É um surfactante não iônico sendo relativamente não tóxico. O Pluronic® P65 tem um peso molecular médio de 3,400, uma viscosidade de 180 cps a 60° C, um ponto de turvação (10% aquoso) de 80 - 84° C, e um valor de HLB de 12 - 18.

Pluronic ® P85 (BASF Corp.), também designado como poloxamer 235, é um surfactante de co polímero em bloco di funcional que termina em grupos de hidroxila primária. É um surfactante não iônico sendo relativamente não tóxico. O Pluronic® P85 tem um peso molecular médio de 4,600, uma viscosidade de 310 cps a 60° C, um ponto de turvação (10% aquoso) de 83 - 89° C, e um valor de HLB de 12 - 18.

Polisorbato 80 (polioxietileno-sorbitan-mono oleato, Tween® 80) é um surfactante não iônico. O Polisorbato 80 tem um peso molecular médio de 1,300, uma viscosidade de 375 - 480 mPa.s a 25° C, e um valor de HLB de 14 - 16.

TPGS (succinato de D-α-tocoferila polietileno glicol 1000) é um derivativo solúvel em água do succinato de D-α-tocoferila. TPGS é usado como uma forma de liberação solúvel em água da vitamina E para indivíduos com síndromes de má absorção de gordura, tais como colestase infantil crônica. O mesmo também é usado como um intensificador de absorção e de bio disponibilidade para o inibidor de protease de HIV não solúvel em água Amprenavir e para vitaminas solúveis em gordura tais como a vitamina D. O

TPGS é sintetizado pela esterificação do succinato de D-α-tocoferila com polietileno glicol (PEG) 1000 (o peso molecular do PEG 1000 é de aproximadamente 1,000 Daltons). O seu peso molecular é de aproximadamente 1,513 Daltons. É uma substância sólida e cerácea, tem uma coloração amarela claro que é anfipática e hidrofílica. A fármaco cinética do TPGS ainda está sendo trabalhada e pesquisada. O TPGS é mais eficientemente absorvido a partir do lúmen do intestino delgado seguido da ingestão de outras formas de vitamina E. O mecanismo da sua absorção nos enterócitos permanece algo não muito claro e desconhecido. Por causa da sua natureza anfipática (tem ambas as extremidades hidrofílica e lipofílica) o TPGS forma as suas próprias micelas e, assim sendo, não requer sais de bílis para formá-las. O TPGS pode intensificar a absorção de drogas lipofílicas se formulado em conjunto com estas drogas. Adicionalmente, a intensificação da bio disponibilidade oral de algumas drogas quando co administradas com TPGS pode, em parte, ser devido à inibição da P-glicoproteína no intestino.

As nano partículas de PLA carregadas com droga e as nano partículas de PLGA da invenção podem ser usadas para direcionar a droga por toda a barreira sanguínea cerebral até o sistema nervoso central, e para tratar as doenças e as desordens do sistema nervoso central ou para a fabricação de um medicamento para tratar as doenças e as desordens do sistema nervoso central.

A Figura 1 mostra um gráfico o qual ilustra a sobrevivência de ratos sofrendo de glioblastoma intracraniano 101/8 depois de quimo terapia com várias preparações de nano partículas compreendendo doxorubicina.

A Figura 2 mostra um gráfico o qual ilustra a sobrevivência de ratos sofrendo de glioblastoma intracraniano

101/8 depois de quimo terapia com várias preparações de nano partículas compreendendo doxorubicina e TPGS.

As nano partículas de PLA carregadas com droga e as nano partículas de PLGA da invenção podem ser produzidas tanto por meio de (a) uma técnica de evaporação por alta pressão de um solvente de homogeneização ou (b) uma técnica de emulsão dupla (emulsão de água em óleo em água).

a) Técnica de evaporação por alta pressão de um solvente de homogeneização.

Tipicamente, o polímero e a droga são dissolvidos em um solvente orgânico. Esta fase orgânica é lentamente derramada, sendo misturada, em uma solução aquosa de um agente estabilizador. A mistura é então emulsionada usando um homogeneizador de cisalhamento de alta velocidade. A emulsão primária obtida é então passada através de um homogeneizador de alta pressão numa alta pressão. O solvente orgânico é removido tanto por uma evaporação lenta em temperatura ambiente e pressão normal sob mistura, ou por uma evaporação rápida sob uma pressão reduzida. Durante o processo, as nano gotículas solidificam no sistema aquoso.

A nano suspensão resultante é filtrada através de um filtro de vidro sinterizado. Para a sua armazenagem um agente crio protetor é adicionado, preferivelmente 5% w/v de manitol. Então a suspensão é preenchida em frascos de vidro, é congelada a -35° C, e subseqüentemente congelado a seco.

Se composições adicionais tais como fosfato de acetila, sulfato de potássio colesterila ou succinato de tocoferila são usados como emulsificantes e/ou contra íons na preparação do sistema de direcionamento de droga, o polímero e a composição de lipídeo passam por uma solubilidade em um solvente orgânico e a droga é dissolvida em água. A solução orgânica e a

solução aquosa são misturadas e são incubadas em temperatura ambiente. Então a mistura é derramada em uma solução aquosa misturada contendo um agente estabilizador, e então e adicionalmente processada, conforme acima descrito.

b) Técnica de emulsão dupla

Tipicamente, o polímero é dissolvido em um solvente orgânico e a droga é dissolvida em água. A solução aquosa é adicionada a fase orgânica. A mistura é emulsionada. A emulsão w/o obtida é adicionada a uma solução aquosa de um agente estabilizador e é então adicionalmente emulsionada. A emulsão bruta resultante é passada através de um homogeneizador de alta pressão. A etapa de homogeneização é repetida várias vezes para produzir uma emulsão w/o/w estável. Então o solvente orgânico é removido por evaporação lenta em temperatura ambiente e pressão normal.

É possível dissolver a droga e um emulsificante adicional tal como γ-ciclodextrin em água antes de adicionar a solução a fase orgânica.

A nano suspensão obtida é filtrada através de um filtro de vidro sinterizado. Para a sua armazenagem um agente crio protetor é adicionado, e a nano suspensão é preenchida em frascos de vidro, é congelada, e então congelado a seco.

As formulações de nano partículas obtidas são então testadas no que diz respeito ao poder de re suspensão, tamanho de partícula, carga de droga (em teoria), e conteúdo de droga.

Deveria ser subentendido que a descrição detalhada e os exemplos específicos, enquanto indicando as realizações preferidas da invenção, são fornecidos apenas como uma maneira de ilustração, uma vez que várias mudanças e modificações dentro do espírito e do escopo da invenção se tornarão aparentes para

aqueles indivíduos com especialização na técnica a partir desta descrição e a figura acompanhante assim como a partir das reivindicações.

O sistema de direcionamento de droga da invenção compreende nano partículas com uma base de poli (DL-lactida) e/ou poli (DL-lactida-co-glicolida), pelo menos uma substância farmacologicamente ativa, e tanto contém TPGS ou compreende um revestimento de surfactante depositado sobre as nano partículas carregadas de droga, na qual o surfactante é poloxamer 188.

Em uma realização preferida, as nano partículas do sistema de direcionamento de droga têm um diâmetro abaixo de 1.000 nm, preferivelmente um diâmetro abaixo de 100 e 800 nm, mais preferivelmente um diâmetro entre 130 e 160 nm.

As nano partículas com base em PLA- e/ou PLGA da presente invenção podem ser carregadas com, virtualmente, qualquer substancia farmacologicamente ativa com o objetivo de administrar a referida substancia farmacologicamente ativa, por exemplo, um agente terapêutico ou um agente de diagnóstico, para o SNC (Sistema Nervoso central) de um mamífero por toda a sua barreira sanguínea cerebral.

O agente terapêutico pode ser selecionado a partir do grupo consistindo de drogas que atuam nos sites de junção sinóptica e neuro efetuador; analgésicos e anestésicos gerais e locais; hipnóticos e sedativos; drogas para o tratamento de desordens psiquiátricas tais como depressão e esquizofrenia; antiepilépticos e anticonvulsivos; drogas para o tratamento da doença de Huntington, envelhecimento e mal de Alzheimer; antagonistas de amino ácidos excitantes e fatores neuro trópicos e agentes neuro degenerativos; fatores tróficos; drogas direcionadas para o tratamento de trauma do SNC ou derrame; drogas para o

tratamento de dependência ou do abuso de drogas; drogas com autacóides e antiinflamatórias; agentes quimos terapêuticos para infecções parasíticas e doenças microbiais; agentes imuno supressivos e drogas anticâncer; hormônios e antagonistas de hormônios; metais pesados e antagonistas de metais pesados; antagonistas para agentes tóxicos não metálicos; agentes citostáticos para o tratamento do câncer; substâncias de diagnóstico para o uso em medicina nuclear; agentes imuno ativos e imuno reativos; transmissores e os seus respectivos agonistas de receptores e antagonistas de receptores, os seus respectivos precursores ou metabólicos; antibióticos, antiespasmódicos, anti histamínicos, antinauseantes, relaxantes, estimulantes, oligonucleótidos de "senso" e "anti-senso", dilatadores cerebrais, psicotrópicas, antimanias, dilatadores e constritores vasculares, anti hipertensivos, tratamento de enxaqueca, hipnóticos, agentes hiper- ou hipo- glicêmicos, agentes minerais ou nutricionais, drogas antiobesidade, anabólicos e antiasmáticos, e as misturas dos mesmos.

Os agentes terapêuticos preferidos são as drogas anticâncer, preferivelmente os agentes anti neoplásticos. Os agentes anti neoplásticos podem ser selecionados a partir do grupo consistindo de alcalóides, agentes de alquilação tais como os sulfonatos de alquila, aziridinas, etileniminas e os metileniminas, mostardas de nitrogênio, nitrosouréias, os antibióticos e os análogos, preferivelmente antraciclinas, anti metabolito tais como análogos de ácido fólico, antagonistas de ácido fólico, análogos de purina e análogos de pirimidina, enzimas, imuno moduladores, imuno toxinas, anticorpos mono clonais, e os complexos de platina.

O agente anti neoplástico particularmente preferido

pode ser selecionado a partir do grupo consistindo de 9-aminocamptothecina, docetaxel, ecteinascidins, etoposida, irinotecan, paclitaxel, rubitecan, teniposido, topotecan, vinblastina, vincristina, vindesina, busulfan, improsulfan, piposulfan, carboquone, uredepa, altretamina, trietilenemelamina, trietetilenefosforamido, trietilenetiofosforamido, clorambucil, clornafazina, ciclofosfamido, estramustina, ifosfamido, mecloretamina, mecloretamina oxido hidrocloreto, melfalan, novembichin, perfosfamido, fenesterina, prednimustina, triclormetina, trofosfamido, uracil mustard, carmustina, clorozotocin, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina, dacarbazina, mannomustina, mitobronitol, mitolactol, pipobroman, temozolomido, aclacinomicins, antramicina, azaserina, bleomicins, cactinomicina, carubicin, chromomicinas, dactinomicina, daunorubicin, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicin, epirubicin, idarubicin, menogaril, mitomicinas, mycofenolic acid, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, pirarubicin, plicamicina, porfiromicina, puromicina, streptonigrin, streptozocin, TNP-470, tubercidin, valrubicin, zinostatin, zorubicin, denopterin, edatrexato, metotrexato, nolatrexed, pemetrexed, piritrexim, pteropterin, ralitrexed, trimetrexato, cladribina, fludarabina, 6-mercaptopurina, thiamiprina, thioguanina, tiazofurin, ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, capecitabina, carmofur, citarabina, decitabina, doxifluridina, emitefur, enocitabina, floxuridina, fluorouracil, gemcitabina, tegafur, L-asparaginase, ranpirnase, bropirimina, interferon-α, interferon-γ, interleukin-2, lentinan, propagermanium, PSK®, roquinimex, sizofiran, ubenimex, denileukin diftitox, alemtuzumab, edrecolomab, gemtuzumab ozogamicin, ibritumomab tiuxetan, rituximab, tositumomab ^{131}I, trastuzumab, carboplatin, cisplatin, lobaplatin, miboplatin, oxaliplatin,

amsacrina, trióxido de arsênico, bisantrene, defosfamina, demecolcina, diaziquone, eflornithina, acetato de eliptio, etoglucid, fenretinido, flavopiridol, nitrwato de gálio, hidroxiuréia, imatinib, liarozole, lonidamina, miltefosina, mitoguazone, mitoxantrone, mopidamol, nitracrina, pentostatin, fenamet, podofilínico 2-etilahidrazido, procarbazina, razoxane, sobuzoxane, spirogermanium, ácido tenuazônico, tirapazamina, triaziquone, e uretano.

O sistema de direcionamento de droga da invenção pode ser produzido por uma técnica de evaporação de solvente e homogeneização em alta pressão ou pro uma técnica de emulsão dupla.

Um método preferido para preparar um sistema de direcionamento de droga de nano partículas de PLA- e/ou PLGS carregadas com droga contendo TPGS compreende as etapas de:

- solubilizar poli (DL-lactida) e/ou poli (DL-lactida-co-glicolida), pelo menos uma substância farmacologicamente ativa, e opcionalmente uma composição de lipídeo em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- derramar a fase orgânica em uma solução aquosa contendo TPGS;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- homogeneizar a emulsão primária;

- remover o solvente orgânico a partir da emulsão primária; e

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas com droga.

Um outro método preferido para preparar o sistema de direcionamento de droga de nano partículas de PLA- e/ou PLGS

carregadas com droga contendo TPGS compreende as etapas de:

- solubilizar poli (DL-lactida) e/ou poli (DL-lactida-co-glicolida) em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- dissolver pelo menos uma substância farmacologicamente ativa em uma solução aquosa;

- derramar a solução aquosa na fase orgânica;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- derramar a emulsão primária em uma solução aquosa de TPGS;

- homogeneizar a mistura da emulsão primária e da solução aquosa de TPGS;

- remover o solvente orgânico a partir da mistura da emulsão primária e a solução aquosa de um agente estabilizador;

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas com droga.

Um método preferido para preparar o sistema de direcionamento de droga de nano partículas de PLA- e/ou PLGS carregadas com droga sendo revestido com poloxamer 188 compreende as etapas de:

- solubilizar poli (DL-lactida) e/ou poli (DL-lactida-co-glicolida), pelo menos uma substância farmacologicamente ativa e opcionalmente uma composição de lipídeo em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- derramar a fase orgânica numa solução aquosa opcionalmente compreendendo um agente estabilizador;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- homogeneizar a emulsão primária;

- remover o solvente orgânico a partir da emulsão primária;

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas com droga, e

- revestir as nano partículas com poloxamer 188.

Um outro método preferido para preparar o sistema de direcionamento de droga de nano partículas de PLA- e/ou PLGS carregadas com droga sendo revestido com poloxamero 188 compreende as etapas de:

- solubilizar poli (DL-lactida) e/ou poli (DL-lactida-co-glicolida) em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- dissolver pelo menos uma substância farmacologicamente ativa em uma solução aquosa;

- derramar a solução aquosa na fase orgânica;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- derramar a emulsão primária em uma solução aquosa de um agente estabilizador;

- homogeneizar a emulsão primária e a solução aquosa de um agente estabilizador;

- remover o solvente orgânico a partir da emulsão primária e a solução aquosa de um agente estabilizador;

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas com droga, e

- revestir as nano partículas com poloxamer 188.

Os agentes de diagnóstico e os agentes terapêuticos preferidos, em particular os agentes anti neoplásticos para a produção do sistema de direcionamento de droga da invenção foram aqui e anteriormente especificados.

Os solventes orgânicos preferidos para a produção do sistema de direcionamento de droga da invenção são selecionados a partir do grupo consistindo de diclorometano e clorofórmio. Também é possível usar acetato de etila como um solvente para a produção de nano partículas de PLA- e/ou PLGA, contanto que o agente estabilizador opcional seja solúvel em acetato de etila.

Adicionalmente, ainda é possível usar misturas de diclorometano e de acetato de etila.

A composição de lipídeo preferida é selecionada a partir do grupo consistindo de fosfato de cetila, sulfato de potássio colesterila e succinato de tocoferila.

Os agentes estabilizadores preferidos são emulsificantes, surfactantes ou contra íons. Os agentes estabilizadores preferidos são selecionados a partir do grupo consistindo de álcoois de poli vinila, soro de albuminas, γ-ciclodextrin, e succinato de D-α-tocoferila poli etileno glicol 1000, nos quais os álcoois de poli vinila, preferivelmente, têm um peso molecular de 30 - 70 kDa, e um soro de albumina particularmente preferido é o soro de albumina humano.

Para o propósito de armazenamento, a nano suspensão de nano partículas carregadas com droga pode ser congelada a seco antes das mesmas serem revestidas com poloxamer 188. Preferivelmente, um agente de crio proteção é adicionado a nano suspensão antes da mesma ser congelada a seco. Um agente de crio proteção adequado é o manitol, o qual é preferivelmente adicionado a nano suspensão em uma quantidade de 5% (w/v).

O revestimento das nano partículas carregadas com droga é preferivelmente realizado com uma solução de poloxamer 188 em uma solução e por permitir tempo suficiente para permitir com

que o surfactante revista as nano partículas carregadas com droga.

O sistema de direcionamento de droga para a administração de uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, na qual o sistema de direcionamento de droga compreende nano partículas feitas de poli (DL-lactida) e/ou poli (DL-lactida -co-glicolida), um agente terapêutico, e TPGS ou um revestimento de um surfactante de poloxamer 188 depositado sobre as nano partículas carregadas com droga pode ser usado para tratar doenças ou desordens do sistema nervoso central de um mamífero. O sistema de direcionamento de droga é particularmente adequado para a administração de substâncias farmacologicamente ativas as quais tem uma atividade no sistema nervoso central mas não podem atravessar a barreira sanguínea central de um mamífero sem ser modificada ou sem ser associada com um transportador.

O sistema de direcionamento de droga da invenção é particularmente útil para o tratamento de cânceres neurológicos, porque o mesmo pode liberar agentes neoplásticos através da barreira sanguínea cerebral com o objetivo de direcionar essas drogas anticâncer para o sistema nervoso central.

O sistema de direcionamento de droga da invenção é para ser administrado de tal maneira que o mesmo possa entrar na corrente sanguínea onde a droga atinge e atravessa a barreira sanguínea cerebral. Preferivelmente, o sistema de direcionamento de droga da invenção é administrado oralmente ou por injeção, mais preferivelmente por meio de uma injeção intravenosa.

Exemplos

1. Preparação de formulações nano particuladas

Vários graus de polímeros de Lactel® - poli (DL-lactida) (PLA) e poli (DL-lactida-co-glicolida) (PLGA) - foram

adquiridos a partir da Absorbable Polymers, USA; hidrocloreto de doxorubicina foi um presente generoso a partir da Sicor, Rho, Itália; fosfato de cetila, sulfato de potássio de colesterila, álcool de polivinila (PVA) (MW 30 - 70 kDa), e soro de albumina humano (Human Serum Albumin = HSA) foram adquiridos a partir da Sigma; succinato de D-α-tocoferila polietileno glicol 1000 (TPGS) foi comprado a partir da Eastman Chemical Company, USA.

As nano partículas de PLA e de PLGA carregadas com droga foram produzidas utilizando a técnica de evaporação de solvente - de homogeneização com alta pressão ou a técnica de emulsão dupla.

Para a evaporação de solvente - homogeneização com alta pressão, o polímero e a droga foram usualmente dissolvidos em diclorometano. Essa fase orgânica foi lentamente derramada, sob mistura, em uma solução aquosa de um estabilizador (PVA ou HSA). A mistura foi emulsionada usando um homogeneizador de cisalhamento de alta velocidade (Ultra-Turrax T-25 (IKA)). A emulsão primária obtida foi então passada através do homogeneizador de alta pressão (APV Mícron Lab 40; Gaulin GmbH, Alemanha) a 400 bar. O solvente orgânico foi removido por meio de uma lenta evaporação em temperatura ambiente e pressão normal, sob mistura (3 h), ou por meio de uma rápida evaporação sob pressão reduzida (evaporador rotativo BUCHI R-200). Durante o processo, as nano gotículas foram solidificadas no sistema aquoso. A nano suspensão obtida foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado, e 5% w/v de manitol foi adicionado como um agente de crio proteção. Então a nano suspensão foi preenchida em frascos de vidro, foi congelada a -35° C, e foi congelada a seco.

As composições de lipídeos tais como fosfato de acetila, sulfato de potássio de colesterila, ou succinato de

tocoferila foram usados como emulsificantes e/ou contra íons em algumas preparações. Neste caso, o polímero e o componente de lipídeo foram solúveis no solvente orgânico (diclorometano ou clorofórmio) e a droga foi dissolvida em água. A solução orgânica e a solução aquosa foram misturadas e foram incubadas por 12 h em temperatura ambiente. Então a mistura foi derramada em uma solução aquosa misturada (25 ml) contendo um estabilizador e então foi adicionalmente processada conforme acima descrito.

Para a técnica de emulsão dupla, o polímero (500 mg) foi usualmente dissolvido em diclorometano (5 ml) (1 h sob mistura magnética). A droga (50 mg) foi dissolvida em água (2 ml). A solução aquosa foi adicionada por gotejamento à fase orgânica. A mistura foi emulsionada usnado um Ultra-Turrax T-25 (2 min. a 19,500 rpm). A emulsão w/o obtida foi adicionada a 25 ml de uma solução aquosa a 1% de um agente estabilizador (PVA, HSA, ou TGPS) e então foi emulsionada usando um Ultra-Turraz T-25. A emulsão bruta resultante foi então passada através de um homogeneizador de alta pressão (APV Mícron Lab 40) sob uma pressão de 600 bar. A etapa de homogeneização foi repetida várias vezes para produzir emulsões w/o/w estáveis. O solvente orgânico foi removido a partir da emulsão w/o/w por meio de uma evaporação lenta em temperatura ambiente e pressão normal (misturador magnético, 3 h). A nano suspensão obtida foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e 5% w/v de manitol foi adicionado como um agente de crio proteção. Então a emulsão foi preenchida em frascos de vidro (1 ml/ frasco de vidro), foi congelada (-35° C), e foi congelada a seco.

Diclorometano é um solvente típico usado na preparação de nano partículas de PLA/PLGA. Todavia, também é possível usar acetato de etila ou as misturas de diclorometano e

acetato de etila. Todavia, certos contra íons não são solúveis em acetato de etila. Nesses casos acetato de etila é um solvente inapropriado para a fabricação de nano partículas de PLA/PLGA.

As formulações obtidas foram testadas no que diz respeito a re suspensão, tamanho de partícula, carga de droga (em teoria), e conteúdo de droga. A formulação nano particulada obtida era considerada adequadas se um sistema uniforme e estável era observado depois da reconstituição na água, das partículas congeladas a seco. A re suspensão das nano partículas foi avaliado visualmente. Portanto, o conteúdo de um frasco de vidro contendo uma formulação congelada a seco foi reconstituído para o seu volume inicial (2 ml) com água, e o frasco de vidro foi gentilmente sacudido por 2 - 4 min. As formulações adequadamente reconstituídas se tornaram líquidos opalescentes sem aglomerados ou precipitações visíveis. As amostras contendo aglomerados ou precipitações visíveis foram descartadas.

O tamanho das nano partículas foram medidos por meio de uma espectroscopia de correlação de fóton (Photon Correlation Spectroscopy = PCS) na qual uma aliquota da formulação reconstituida (50 µl) foi transferida para um tubo de teste de Nanosizer contendo 3 ml de água duplamente destilada. O tubo foi sacudido e então inserido em um Coulter N4MD Nanosizer (Coulter Electronics, U.K.). Os parâmetros de trabalho foram:

Angulo de dispersão:	90°
Temperatura:	25°
Viscosidade:	0.01 poise
Índice de refração:	1.333

A carga de droga foi medida na mistura de reação depois da etapa de filtragem ou na formulação congelada a seco

depois da reconstituição. O método para determinar a carga da droga compreende a separação das nano partículas por meio de uma ultrafiltragem e uma analise quantitativa subseqüente da droga liberada no material filtrado por meio de uma espectrometria.

Para determinar a carga de droga de uma formulação de nano partículas, o conteúdo de um frasco de vidro com uma formulação congelada a seco foi reconstituído em 1 ml de água; 400 µl foram transferidos para um filtro micro centrífugo (Microcon 30 kDa, Millipore), e as nano partículas foram separadas por meio de centrifugação a 16,000 rpm por 50 min. 100 µl do material claro filtrado foi transferido para um cuvete contendo 3 ml de água duplamente destilada e a absorção foi medida pela utilização de um espectrofotômetro (Spectronics Heλios, Thermospectronic, GB) contra água a 480 nm. A concentração de uma droga na amostra foi determinada usando um gráfico de calibração apropriado.

A carga de droga relativa (% da quantidade total de droga) foi calculada da seguinte maneira:

$$\%\ de\ carga\ de\ droga = \frac{Ci - Cf}{Ci} \times 100\%,\ \text{onde}$$

C_i = concentração inicial de droga no meio de polimerização (mg/ml);

C_f = concentração de droga no material filtrado (mg/ml).

O método para a determinação do conteúdo de droga (mg/ frasco de vidro) é uma analise quantitativa depois da completa dissolução da formulação congelada a seco. A concentração de droga na solução é medida por meio de uma espectrofotometria usando uma curva de calibração.

Para determinar o conteúdo de droga, o conteúdo de um

frasco de vidro com uma formulação congelada a seco foi dissolvido em 2 ml de dimetilasulfóxido (3 h, em temperatura ambiente); 100 µl dessa solução foram transferidos em um cuvete de um espectrofotômetro contendo 3 ml de água duplamente destilada, e a absorção foi medida a 480 nm contra água pela utilização de um espectrofotômetro (Spectronics Heλios; Thermospectronic, GB). A concentração de droga na amostra foi determinada usando a gráfico de calibração apropriado.

Preparação 1

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de evaporação de solvente e homogeneização de alta pressão. 250 mg do polímero (PLGA 75:25, MW 90,000 - 126,000 Da) e 25 mg de doxorubicina foram dissolvidos em 5 ml de diclorometano. A fase orgânica foi derramada em uma solução aquosa misturada (25 ml) contendo 0.5% de PVA como um agente estabilizador e a mistura foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 15,100 rpm). A emulsão primária resultante foi adicionalmente homogeneizada usando um homogeneizador de alta pressão (APV Mícron Lab 40) a 400 bar. O diclorometano foi evaporado sob pressão reduzida (rotor evaporador BUCHI R-200). A nano suspensão resultante filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e congelada a seco depois da adição de 5% w/v de manitol como um crio protetor. A formulação congelada a seco foi completamente passível de re suspensão. Os tamanhos das partículas foram medidos por PCS com um tamanho de 140 - 220 nm, e a carga de doxorubicina for de 40%.

Preparação 2

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 500 mg do polímero (PLGA com ácido de grupos finais, com uma viscosidade inerente: η=0.20 dL/g) passaram

por uma solubilização em 3 ml de diclorometano. 25 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de 0.001N NCl. A solução aquosa foi derramada na fase orgânica, e a mistura foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 19,500 rpm). A emulsão primária resultante foi derramada em 25 ml de uma solução aquosa de PVA a 1%, e a mistura foi uma outra vez homogeneizada utilizando o Ultra-Turrax T-25, e então passada três vezes através de um homogeneizador de alta pressão (APV Mícron Lab 40) a 600 bar. O diclorometano foi evaporado pela mistura da emulsão em temperatura ambiente por 3 h. A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 110 - 160 nm, com uma carga de doxorubicina de 75%.

Preparação 3

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 500 mg do polímero (PLGA 75 : 25, MW 90,000 - 1'26,000 Da) passaram por uma solubilização em 3 ml de diclorometano. 25 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de 0.001N NCl. A solução aquosa foi derramada na fase orgânica, e a mistura foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 19,500 rpm). A emulsão primária resultante foi derramada em 25 ml de uma solução aquosa de PVA a 1%, e a mistura foi uma outra vez homogeneizada utilizando o Ultra-Turrax T-25, e então passada três vezes através de um homogeneizador de alta pressão (APV Mícron Lab 40) a 600 bar. O diclorometano foi evaporado pela mistura da emulsão em temperatura ambiente por 3 h. A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 %

w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 160 - 330 nm, com uma carga de doxorubicina de 47%.

Preparação 4

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 500 mg do polímero ((PLA, η=0.36 dL/g)) passaram por uma solubilização em 3 ml de diclorometano. 25 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de 0.001N NCl. A solução aquosa foi derramada na fase orgânica, e a mistura foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 19,500 rpm). A emulsão primária resultante foi derramada em 25 ml de uma solução aquosa de PVA a 1%, e a mistura foi uma outra vez homogeneizada utilizando o Ultra-Turrax T-25, e então passada três vezes através de um homogeneizador de alta pressão (APV Micron Lab 40) a 600 bar. O diclorometano foi evaporado pela mistura da emulsão em temperatura ambiente por 3 h. A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 126 - 210 nm, com uma carga de doxorubicina de 42%.

Preparação 5

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 500 mg do polímero (PLGA com grupos de ácido final, η=0.20 dL/g) passaram por uma solubilização em 3 ml de diclorometano. 25 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de 0.001N NCl. A solução aquosa foi derramada na fase orgânica, e a mistura foi emulsionada usando um Ultra-

Turrax T-25 (2 min; 19,500 rpm). A emulsão primária resultante foi derramada em 25 ml de uma solução aquosa de PVA a 1%, e a mistura foi uma outra vez homogeneizada utilizando o Ultra-Turrax T-25, e então passada três vezes através de um homogeneizador de alta pressão (APV Micron Lab 40) a 600 bar. O diclorometano foi evaporado pela mistura da emulsão em temperatura ambiente por 3 h. A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 140 - 200 nm, com uma carga de doxorubicina de 73%.

Preparação 6

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 500 mg do polímero (PLGA 50:50 com grupos de ácido final, η=0.20 dL/g) passaram por uma solubilização em 3 ml de diclorometano. 25 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de 0.001N NCl. A solução aquosa foi derramada na fase orgânica, e a mistura foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 19,500 rpm). A emulsão primária resultante foi derramada em 25 ml de uma solução aquosa de PVA a 1%, e a mistura foi uma outra vez homogeneizada utilizando o Ultra-Turrax T-25, e então passada três vezes através de um homogeneizador de alta pressão (APV Micron Lab 40) a 600 bar. O diclorometano foi evaporado pela mistura da emulsão em temperatura ambiente por 3 h. A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 130 - 190

nm, com uma carga de doxorubicina de 67%.

Preparação 7

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 500 mg do polímero (PLGA 50:50 com grupos de ácido final, η=0.20 dL/g) passaram por uma solubilização em 3 ml de diclorometano. 25 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de 0.001N NCl. A solução aquosa foi derramada na fase orgânica, e a mistura foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 20,100 rpm). A emulsão primária resultante foi derramada em 25 ml de uma solução aquosa de PVA a 1%, e a mistura foi uma outra vez homogeneizada utilizando o Ultra-Turrax T-25, e então passada três vezes através de um homogeneizador de alta pressão (APV Micron Lab 40) a 600 bar. O diclorometano foi evaporado pela mistura da emulsão em temperatura ambiente por 3 h. A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 125 - 185 nm, com uma carga de doxorubicina de 69%.

Preparação 8

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 500 mg do polímero (PLGA 50:50 com grupos de ácido final, η=0.20 dL/g) passaram por uma solubilização em 3 ml de diclorometano. 25 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de 0.001N NCl. A solução aquosa foi derramada na fase orgânica, e a mistura foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 22,600 rpm). A emulsão primária resultante foi derramada em 25 ml de uma solução aquosa de PVA a

1%, e a mistura foi uma outra vez homogeneizada utilizando o Ultra-Turrax T-25, e então passada três vezes através de um homogeneizador de alta pressão (APV Micron Lab 40) a 600 bar. O diclorometano foi evaporado pela mistura da emulsão em temperatura ambiente por 3 h. A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 100 - 200 nm, com uma carga de doxorubicina de 40%.

Preparação 9

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 250 mg do polimero (PLA, MW 90,000 - 126,000 Da) e 15.1 mg de acetate de cetila passaram por uma solubilização em 4 ml de diclorometano. 21.8 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de água. A solução orgânica e a solução aquosa foram misturadas e foram incubadas por 12 h em temperatura ambiente. Então as misturas foram derramadas em uma solução aquosa misturada (25 ml) contendo 1% de HSA como um agente estabilizador e foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 19,500 rpm). A emulsão primária resultante foi passa quatro vezes através de um homogeneizador de alta pressão (APV Micron Lab 40) a 600 bar. O diclorometano foi evaporado sob pressão reduzida (rotor evaporador BUCHI R-200). A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 160 - 240 nm, com uma carga de doxorubicina de 60%.

Preparação 10

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 500 mg do polímero (PLGA 50:50 com grupos de ácido final, η=0.20 dL/g) passaram por uma solubilização em 3 ml de diclorometano. 25 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de 0.001N NCl. A solução aquosa foi derramada na fase orgânica, e a mistura foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 19,900 rpm). A emulsão primária resultante foi derramada em 25 ml de uma solução aquosa de PVA a 1%, e a mistura foi uma outra vez homogeneizada utilizando o Ultra-Turrax T-25, e então passada três vezes através de um homogeneizador de alta pressão (APV Micron Lab 40) a 600 bar. O diclorometano foi evaporado pela mistura da emulsão em temperatura ambiente por 3 h. A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 300 - 380 nm, com uma carga de doxorubicina de 45%.

Preparação 11

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 500 mg do polímero (PLA, 0.34 dL/g) e 21.2 mg de sulfato de potássio de colesterila passaram por uma solubilização em 5 ml de clorofórmio. 21.8 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de água. A solução aquosa e a solução orgânica foram misturadas e foram incubadas por 12 h em temperatura ambiente. Então a mistura foi derramada em uma solução aquosa misturada (23 ml) contendo 1% de PVA como um agente estabilizador e foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 19,100 rpm). A emulsão primária resultante foi passada quatro

vezes através de homogeneizador de alta pressão (APV Micron Lab 40) a 600 bar. O diclorometano foi evaporado sob pressão reduzida (rotor evaporador BUCHI R-200). A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 500 - 600 nm, com uma carga de doxorubicina de 89%.

Preparação 12

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 250 mg do polímero (PLA, 0.34 dL/g) e 22.9 mg de succinato de D-α-tocoferyl succinate passaram por uma solubilização em 5 ml de clorofórmio. 25.4 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de água. A solução aquosa e a solução orgânica foram misturadas e foram incubadas por 12 h em temperatura ambiente. Então a mistura foi derramada em uma solução aquosa misturada (23 ml) contendo 0,5% de PVA como um agente estabilizador e foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 23,600 rpm). A emulsão primária resultante foi passada quatro vezes através de homogeneizador de alta pressão (APV Micron Lab 40) a 600 bar. O clorofórmio foi evaporado sob pressão reduzida (rotor evaporador BUCHI R-200). A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 224 - 368 nm, com uma carga de doxorubicina de 50%.

Preparação 13

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 250 mg do polímero (PLA, 0.34 dL/g) e

14.9 mg de fosfato de cetila passaram por uma solubilização em 5 ml de clorofórmio. 24.5 mg de hidrocloreto de doxorubicina foram dissolvidos em 2 ml de água. A solução aquosa e a solução orgânica foram misturadas e foram incubadas por 12 h em temperatura ambiente. Então a mistura foi derramada em uma solução aquosa misturada (23 ml) contendo 0,5% de PVA como um agente estabilizador e foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 23,600 rpm). A emulsão primária resultante foi passada quatro vezes através de homogeneizador de alta pressão (APV Micron Lab 40) a 600 bar. O clorofórmio foi evaporado sob pressão reduzida (rotor evaporador BUCHI R-200). A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 200 - 250 nm, com uma carga de doxorubicina de 53%.

Preparação 14

Nano partículas foram preparadas por meio de uma técnica de emulsão dupla. 500 mg do polímero (PLGA 50:50 com grupos de ácido final, η=0.67 dL/g) passaram por uma solubilização em 3 ml de diclorometano. 20 mg de hidrocloreto de doxorubicina e 45 mg de γ-ciclodextrin foram dissolvidos em 3 ml de água. Uma solução aquosa foi derramada na fase orgânica, e a mistura foi emulsionada usando um Ultra-Turrax T-25 (2 min; 23,600 rpm). A emulsão primária resultante foi derramada em 25 ml de uma solução aquosa de PVA a 0.5%, e a mistura foi uma outra vez homogeneizada utilizando o Ultra-Turrax T-25, e então passada três vezes através de um homogeneizador de alta pressão (APV Micron Lab 40) a 600 bar. O diclorometano foi evaporado pela mistura da emulsão em

temperatura ambiente por 3 h. A nano suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de vidro sinterizado e foi congelada a seco depois da adição de 5 % w/v de manitol como um agente de crio proteção. A formulação congelada a seco foi passível de uma re suspensão por completo. O tamanho da partícula medido por PCS foi de 200 - 250 nm, com uma carga de doxorubicina de 44%.

Estudos com animais

Sistema Modelo de Tumor Ortotópico. Um sistema experimental foi baseado em glioblastoma 101/8 implantado de uma forma intracraniana em ratos. Esse tumor foi inicialmente produzido por uma injeção local de um grão de α-dimetilbenzanthracene (DMBA) no cerebelo de um rato da espécie Wistar e foi mantido por passagens contínuas por meio de um implante cerebral. Para uma armazenagem de longo prazo, o tecido do tumor foi mantido a -196° C e foi propagado por injeção nos cérebros dos ratos.

O glioblastoma 101/8 foi previamente empregado em quimo terapia experimental usando cargas de doxorubicina carregadas na superfície modificada de nano partículas de poli (butila cianoacrilato). O tumor tem uma estrutura monomorfa estável e mostra os quadros das características histológicas de um glioblastoma agressivo com um rápido crescimento e difusão no parênquima cerebral e uma tendência um tanto quanto baixa no que diz respeito à necrose. A possibilidade de transplante do tumor era de cerca de 100%, produzindo uma gestão de vida livre de qualquer sintoma previsível depois da inoculação. O transplante do glioblastoma 101/8 no presente estudo foi desempenhado usando tecidos frescos do tumor. Esta técnica foi escolhida para preservar o maior número possível de características típicas do tumor parente, especialmente no que diz respeito a sua estrutura

antigênica e a sua diferenciação.

Os ratos machos e adultos da espécie Wistar pesando de 200 - 250 g foram aclimatizados por 1 semana e foram enjaulados em grupos de cinco. Eles foram alimentados *ad libitum* com alimento e água padrão de laboratório. Para o implante do tumor, os animais foram profundamente anestesiados com injeções intraperitônio de pentobarbital (50 mg/kg). Através de uma incisão de meia linha sagital, um orifício perfurado por uma broca similar a broca de um dentista de 1.5 mm em diâmetro foi feito com uma perfuradora dental em um ponto 2 mm posterior a sutura coronal direita e 2 mm na lateral da meia linha sagital. Um material de tumor (aproximadamente 10^6 células) a partir do estoque congelado foi introduzido em uma seringa tuberculina ligada a uma agulha de peso 21. A ponta foi posicionada 4 mm abaixo da superfície óssea e o tecido de tumor foi injetado na parte inferior do ventríloquo lateral direito. A incisão do escalpo foi costurada, suturada ou fechada com cola. Depois do desenvolvimento dos sinais clínicos pronunciados da doença (usualmente 14 dias) os animais foram sacrificados por meio de uma asfixia com dióxido de carbono, e então decapitados. O cérebro foi imediatamente removido. O tumor foi retirado e cortado com um bisturi; um implante de tumor (5 mg) foi inoculado no cérebro de novos animais experimentais, conforme acima descrito. As coordenadas apropriadas foram confirmadas e a técnica foi refinada por meio de repetição de experimentos pilotos.

As nano partículas a serem usadas para os testes em animais tiveram como base PLGA molecular baixo numa taxa de 50 : 50 com grupos de ácido final (η = 0.20 dl/g), e carregados com doxorubicina utilizando hidrocloreto de doxorubicina. Uma taxa de

droga para polímero de 1 : 10 foi usada para a preparação das nano partículas de PLGA carregadas com doxorubicina. O tamanho das partículas foi medido como sendo de 144 ± 12 nm, e a carga de doxorubicina foi 75.5%.

Com o objetivo de obter partículas revestidas com um surfactante, a formulação congelada a seco foi re suspensa em uma solução aquosa de 1% de qualquer um dos surfactantes (Pluronic® F68, Pluronic® P85 and polysorbate 80). As preparações resultantes foram então incubadas por 30 minutos sob mistura e foram usadas dentro de um prazo de 2 horas.

Os ratos sofrendo com tais tumores foram aleatoriamente divididos em seis grupos (n = 10) e receberam uma das seguintes formulações: (1) controle não tratado; (2) doxorubicina em salina (DOX); (3) doxorubicina em 1% Pluronic® F68 (Dox/F68); (4) doxorubicina carregada com nano partículas de LGA (DOX-PLGA); (5) doxorubicina carregada com nano partículas de PLGA revestidas com Pluronic® F68 (DOX-PLGA/F68); (6) doxorubicina carregada com nano partículas de PLGA revestidas com polysorbate 80 (não mostrado); (7) doxorubicina carregada com nano partículas de PLGA revestidas com Pluronic® P85 (resultados não mostrados na Fig. 1).

As preparações resultantes foram então incubadas por 30 minutos sob mistura e foram usadas dentro de um prazo de 2 horas.

Estas preparações foram injetadas de uma forma intravenosa na veia da cauda usando o seguinte regime de dosagem: 3 x 1.5 mg/kg no dia 2, dia 5, e no dia 8 depois do implante do tumor.

Os animais foram observados por 100 dias após o

tratamento; então os animais sobreviventes foram sacrificados e necropsiados. Os resultados são mostrados na Fig. 1.

No grupo de controle, todos os animais morreram num prazo de 19 dias depois do implante do tumor. As nano partículas de PLGA carregadas com doxorubicina revestidas com poloxamer 188 intensificaram consideravelmente a sobrevivência dos ratos sofrendo com o tumor; 40% dos animais (4/10) sobreviveram por 100 dias. Apenas um animal do grupo tratado com doxorubicina em uma solução a 1% de poloxamer 188 sobreviveu. A ausência do tumor nesses animais foi confirmada por meio de um exame morfológico.

Em contraste com os resultados obtidos com as nano partículas de PLGA carregadas com doxorubicina e revestidas com ploxamer 188, o revestimento da nano partículas carregadas com doxorubicina tanto com polysorbate 80 ou com Pluronic® P85 falharam no que diz respeito a intensificar a eficácia da nano partícula carregada com doxorubicina.

Em um segundo conjunto de experimentos, as formulações compreendendo nano partículas de PLGA carregadas com doxorubicina com base em PLGA com grupos de ácido finais (PLGA-COOH), e aquelas contendo TPGS como um estabilizador (Dox/PLGA-COOH/TPGS; preparação 10) ou sendo revestidas com TPGS (Dox/PLGA-COOH+TPGS) foram investigadas no que diz respeito ao seu efeito in - vivo sobre os ratos sofrendo com o glioblastoma 101/8. esta última formulação foi obtida pela re suspensão das partículas de acordo com a preparação 5 em o.5% de TPGS antes das nano partículas serem injetadas nos animais.

O resultado deste conjunto de experimentos é mostrado na Fig. 2. Pode ser visto que as nano partículas de acordo com a preparação 10, por exemplo, aquelas contendo TPGS como um estabilizador, aumentou consideravelmente o tempo de sobrevivência

dos ratos sofrendo com o tumor e permitiu uma sobrevivência a longo termo de 20% dos ratos sofrendo com o tumor neste experimento. As nano partículas de acordo com a preparação 5 que foram revestidas com o TPGS anteriormente ao seu uso não foram tão eficazes.

Reivindicações

1. Sistema de direcionamento de droga para ministrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, o sistema de direcionamento caracterizado pelo fato que compreende nano partículas feitas de poli(DL-lactida) e/ou poli(DL-lactida-co-glicolida), e pelo menos uma substância farmacologicamente ativa sendo absorvida pela, adsorvida pela, e/ou incorporada nas nano partículas, no qual o sistema contém TPGS ou compreende um revestimento de surfactante de pluronic 188 depositado sobre as nano partículas carregadas de droga.

2. Sistema de direcionamento de droga de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato que as nano partículas compreendem partículas tendo um diâmetro abaixo de 1,000 nm, preferivelmente uum diâmetro entre 100 e 800 nm, e mais preferivelmente um diâmetro entre 150 e 600 nm.

3. Sistema de direcionamento de droga de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato que a substância farmacologicamente ativa é um agente terapêutico ou um agente de diagnóstico.

4. Sistema de direcionamento de droga de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato que o agente terapêutico é selecionado a partir do grupo consistindo de drogas atuando nos sites de junção sinóptica e neuro efetuador; analgésicos e anestésicos gerais e locais; hipnóticos e sedativos; drogas para o tratamento de desordens psiquiátricas tais como depressão e esquizofrenia; antiepilépticos e anticonvulsivos; drogas para o tratamento da doença de Huntington, envelhecimento e mal de Alzheimer; antagonistas de amino ácidos excitantes e fatores neuro trópicos e agentes neuro degenerativos; fatores tróficos; drogas

direcionadas para o tratamento de trauma do SNC ou derrame; drogas para o tratamento de dependência ou do abuso de drogas; drogas com autacóidos e antiinflamatórias; agentes quimos terapêuticos para infecções parasíticas e doenças microbiais; agentes imuno supressivos e drogas anticâncer; hormônios e antagonistas de hormônios; metais pesados e antagonistas de metais pesados; antagonistas para agentes tóxicos não metálicos; agentes citostáticos para o tratamento do câncer; substâncias de diagnóstico para o uso em medicina nuclear; agentes imuno ativos e imuno reativos; transmissores e os seus respectivos agonistas de receptores e antagonistas de receptores, os seus respectivos precursores ou metabólicos; antibióticos, antiespasmódicos, anti histamínicos, antinauseantes, relaxantes, estimulantes, oligonucleótidos de "senso" e "anti-senso", dilatadores cerebrais, psicotrópicas, antimanias, dilatadores e constritores vasculares, anti hipertensivos, tratamento de enxaqueca, hipnóticos, agentes hiper- ou hipo- glicêmicos, agentes minerais ou nutricionais, drogas antiobesidade, anabólicos e antiasmáticos, e as misturas dos mesmos.

5. Sistema de direcionamento de drogas de acordo com a reivindicação 4, caracterizado pelo fato que a droga anti câncer é um agente anti neoplástico selecionado a partir do grupo consistindo de de alcalóides, agentes de alquilação tais como os sulfonatos de alquila, aziridinas, etileniminas e os metileniminas, mostardas de nitrogênio, nitrosouréias, os antibióticos e os análogos, preferivelmente antraciclinas, anti metabolito tais como análogos de ácido fólico, antagonistas de ácido fólico, análogos de purina e análogos de pirimidina, enzimas, imuno moduladores, imuno toxinas, anticorpos mono clonais, e os complexos de platina.

6. Sistema de direcionamento de drogas de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato que o agente de diagnóstico é útil na diagnose da medicina nuclear e/ou na terapia de radiação.

7. Método para a preparação de um sistema de direcionamento de droga para administrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, o método caracterizado pelo fato que compreende as etapas de:

- solubilizar poli (DL-lactida) e/ou poli (DL-lactida-co-glicolida), pelo menos uma substância farmacologicamente ativa, e opcionalmente uma composição de lipideo em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- derramar a fase orgânica em uma solução aquosa contendo TPGS;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- homogeneizar a emulsão primária;

- remover o solvente orgânico a partir da emulsão primária; e

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas com droga.

8. Método para preparar um sistema de direcionamento de droga para administrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, o método caracterizado pelo fato que compreende as etapas de:

- solubilizar poli (DL-lactida) e/ou poli (DL-lactida-co-glicolida), pelo menos uma substância farmacologicamente ativa, e opcionalmente uma composição de

lipídeo em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- derramar a fase orgânica em uma solução aquosa opcionalmente compreendendo um agente estabilizador;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- homogeneizar a emulsão primária;

- remover o solvente orgânico a partir da emulsão primária;

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas com droga; e

- revestir as nano partículas com poloxamer 188.

9. Método de acordo com a reivindicação 7 ou 8, caracterizado pelo fato que a composição de lipídeo é selecionada a partir do grupo consistindo de fosfato de cetila, sulfato de potássio de colesterila e succinato de tocoferila.

10. Método para preparar um sistema de direcionamento de droga para administrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, o método compreendendo as etapas de:

- solubilizar poli (DL-lactida) e/ou poli (DL-lactida-co-glicolida), em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- dissolver pelo menos uma substância farmacologicamente ativa em uma solução aquosa;

- derramar a solução aquosa na fase orgânica;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- derramar a emulsão primária em uma solução aquosa de TPGS;

- homogeneizar a mistura da emulsão primária e a

solução aquosa de TPGS;

- remover o solvente orgânico a partir da mistura da emulsão primária e da solução aquosa de um agente estabilizador;

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas com droga.

11. Método para preparar um sistema de direcionamento de droga para administrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, o método caracterizado pelo fato que compreende as etapas de:

- solubilizar poli (DL-lactida) e/ou poli (DL-lactida-co-glicolida), em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- dissolver pelo menos uma substância farmacologicamente ativa em uma solução aquosa;

- derramar a solução aquosa na fase orgânica;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- derramar a emulsão primária em uma solução aquosa de um agente estabilizador;

- homogeneizar a mistura da emulsão primária e a solução aquosa de um agente estabilizador;

- remover o solvente orgânico a partir da mistura da emulsão primária e da solução aquosa de um agente estabilizador;

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas com droga; e

- revestir as nano partículas com poloxamer 188.

12. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 7 a 11, caracterizado pelo fato que o agente estabilizador é selecionado a partir do grupo consistindo de

álcoois de poli vinila, soro de albumina, TPGS, e γ-ciclodextrin.

13. Método de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato que o álcool de poli vinila tem um peso molecular de 30 - 70 k|Da.

14. Método de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato que o soro de albumina é um soro de albumina humano.

15. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 7 a 14, caracterizado pelo fato que a substância farmacologicamente ativa é um agente terapêutico ou um agente de diagnóstico.

16. Método de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato que o agente terapêutico é selecionado a partir do grupo consistindo de drogas atuando nos sites de junção sinóptica e neuro efetuador; analgésicos e anestésicos gerais e locais; hipnóticos e sedativos; drogas para o tratamento de desordens psiquiátricas tais como depressão e esquizofrenia; antiepilépticos e anticonvulsivos; drogas para o tratamento da doença de Huntington, envelhecimento e mal de Alzheimer; antagonistas de amino ácidos excitantes e fatores neuro trópicos e agentes neuro degenerativos; fatores tróficos; Drogas direcionadas para o tratamento de trauma do SNC ou derrame; drogas para o tratamento de dependência ou do abuso de drogas; drogas com autacóidos e antiinflamatórias; agentes quimos terapêuticos para infecções parasíticas e doenças microbiais; agentes imuno supressivos e drogas anticâncer; hormônios e antagonistas de hormônios; metais pesados e antagonistas de metais pesados; antagonistas para agentes tóxicos não metálicos; agentes citostáticos para o tratamento do câncer; substâncias de diagnóstico para o uso em medicina nuclear; agentes imuno ativos e

imuno reativos; transmissores e os seus respectivos agonistas de receptores e antagonistas de receptores, os seus respectivos precursores ou metabólicos; antibióticos, antiespasmódicos, anti histamínicos, antinauseantes, relaxantes, estimulantes, oligonucleótidos de "senso" e "anti-senso", dilatadores cerebrais, psicotrópicas, antimanias, dilatadores e constritores vasculares, anti hipertensivos, tratamento de enxaqueca, hipnóticos, agentes hiper- ou hipo- glicêmicos, agentes minerais ou nutricionais, drogas antiobesidade, anabólicos e antiasmáticos, e as misturas dos mesmos.

17. Método de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato que a droga anticâncer é um agente anti neoplástico selecionado a partir do grupo consistindo de de alcalóides, agentes de alquilação tais como os sulfonatos de alquila, aziridinas, etileniminas e os metileniminas, mostardas de nitrogênio, nitrosouréias, os antibióticos e os análogos, preferivelmente antraciclinas, anti metabolito tais como análogos de ácido fólico, antagonistas de ácido fólico, análogos de purina e análogos de pirimidina, enzimas, imuno moduladores, imuno toxinas, anticorpos mono clonais, e os complexos de platina.

18. Método de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato que o agente de diagnóstico é útil na diagnose para a medicina nuclear e/ou para a terapia de radiação.

19. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato que o solvente orgânico é selecionado a partir do grupo consistindo de diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e as misturas dos mesmos.

20. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações de 7 a 19, caracterizado pelo fato que a nano

suspensão é congelada a seco depois da adição de um agente crio protetor.

21. Método de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato que o agente crio protetor é manitol.

22. Método de acordo com a reivindicação 20 ou 21, caracterizado pelo fato que o agente crio protetor é adicionado a nano suspensão em uma quantidade de 5% (w/v).

23. Método para tratar uma doença ou uma desordem do sistema nervoso central de um mamífero compreendendo as etapas de:

- preparar as nano partículas carregadas com droga feitas de poli(DL-lactida) e/ou plo(DL-lactida-co-glicolida);

- revestir as nano partículas de PLGA carregadas com droga com poloxamer 188;

- administrar as nano partículas revestidas com poloxamer 188 carregadas com droga na corrente sanguínea de um mamífero; e

- permitir com que a droga atinja o seu efeito farmacológico.

24. Método de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato que a etapa de administração compreende uma administração oral ou intravenosa.

25. Uso do sistema de direcionamento de droga de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 6 caracterizado pelo fato de ser para o tratamento de uma doença ou de uma desordem do sistema nervoso central de um mamífero.

26. Uso do sistema de direcionamento de droga de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 6 caracterizado pelo fato de ser para a fabricação de um medicamento para o tratamento de uma doença ou de uma desordem do sistema nervoso central de um mamífero.

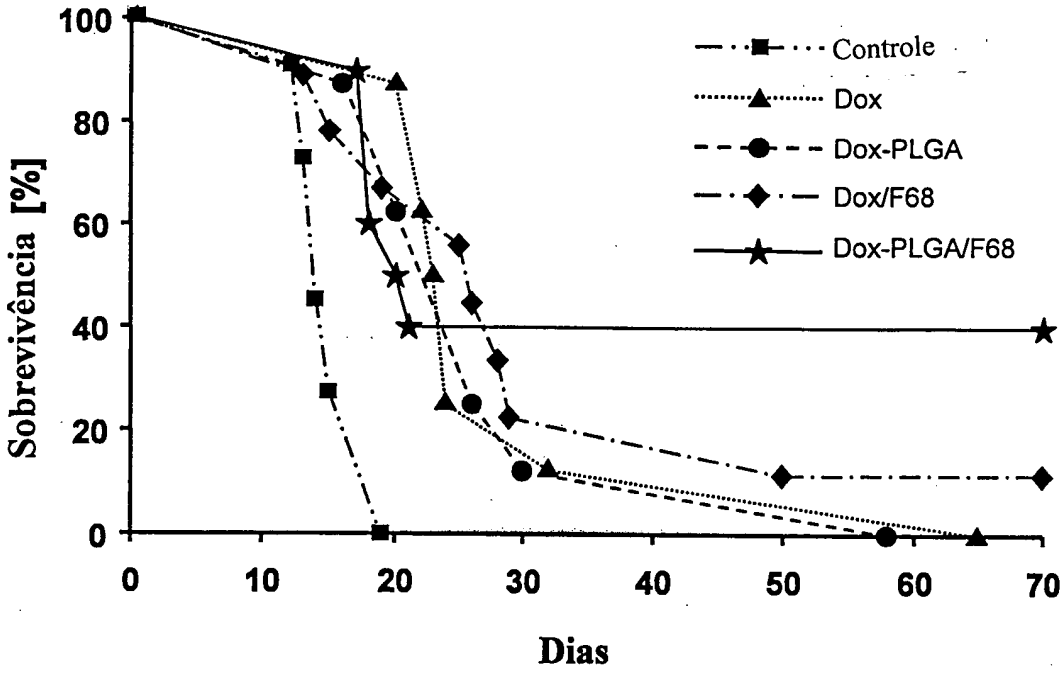
Sobrevivência [%]
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
50
60
70
Dias
Controle
Dox
Dox-PLGA
Dox/F68
Dox-PLGA/F68

FIG. 1

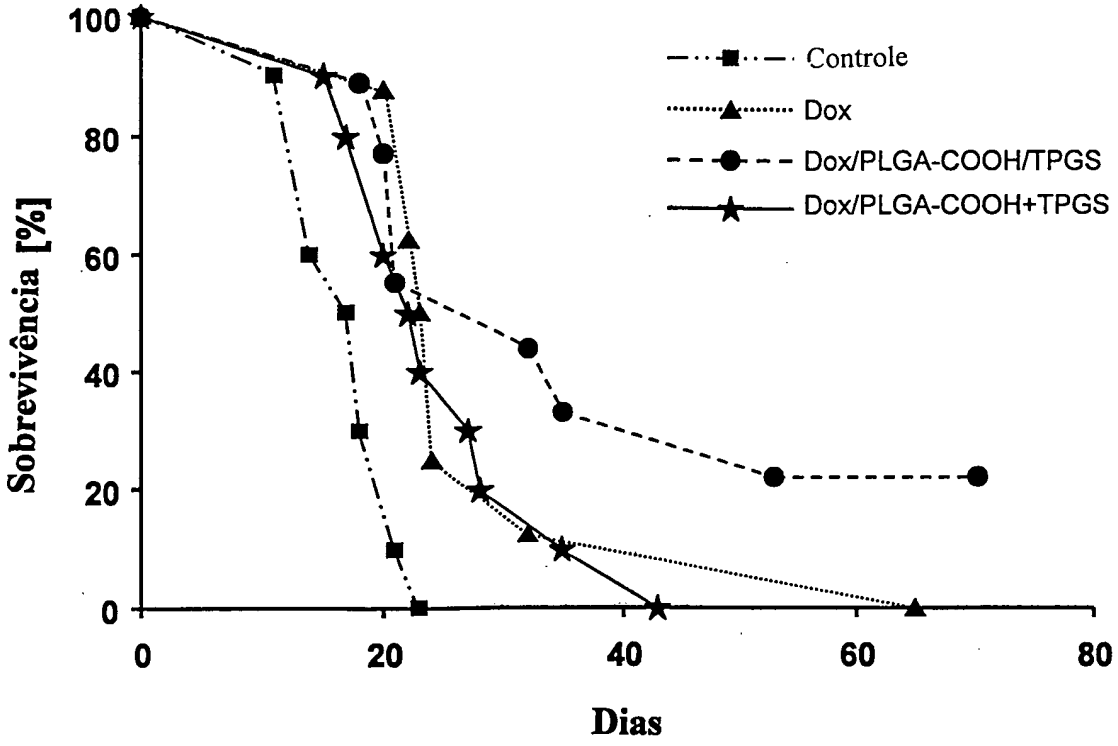
100
80
60
40
20
0
Sobrevivência [%]
0
20
40
60
80
Dias
Controle
Dox
Dox/PLGA-COOH/TPGS
Dox/PLGA-COOH+TPGS

FIG. 2

Resumo

"MÉTODO PARA PREPARAR UM SISTEMA DE DIRECIONAMENTO DE DROGA, SISTEMA DE DIRECIONAMENTO DE DROGA, MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE UMA DOENÇA OU DE UMA DESORDEM DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE UM MAMÍFERO E USO DO SISTEMA DE DIRECIONAMENTO DE DROGA"

A presente invenção refere-se a um sistema de direcionamento de droga para administrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, no qual o sistema de direcionamento de droga compreende nano partículas feitas de of poli(DL-lactida) e/ou poli(DL-lactida-co-glicolida), uma substância farmacologicamente ativa a qual é absorvida pela, adsorvida pela, ou incorporada nas nano partículas, e tanto contém TPGS ou compreende um revestimento de surfactante de pluronic 188 depositado sobre as nano partículas carregadas com droga, aos métodos de produção do sistema de direcionamento de droga, e ao uso do sistema de direcionamento de droga para tratar uma doença ou uma desordem do sistema nervoso central.

Reivindicações

1. Método para preparar um sistema de direcionamento de droga para administrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, o método caracterizado pelo fato que compreende as etapas de:

- solubilizar poli(LD-lactida) e/ou poli(LD-lactida-co-glicolida), pelo menos uma substância farmacologicamente ativa e uma composição de lipídeo selecionada a partir do grupo de composições de lipídeo o qual consiste de fosfato de cetila, sulfato de potássio de colesterila e succinato de tocoferila, em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- derramar a fase orgânica em uma solução aquosa contendo TPGS;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- homogeneizar a emulsão primária;

- remover o solvente orgânico a partir da emulsão primária; e

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas com droga.

2. Método para preparar um sistema de direcionamento de droga para administrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, o método caracterizado pelo fato que compreende as etapas de:

- solubilizar poli(LD-lactida) e/ou poli(LD-lactida-co-glicolida), pelo menos uma substância farmacologicamente ativa , e uma composição de lipídeo selecionada a partir do grupo de composições de lipídeo o qual consiste de fosfato de cetila,

sulfato de potássio de colesterila e succinato de tocoferila, em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- derramar a fase orgânica em uma solução aquosa opcionalmente compreendendo um agente estabilizador;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- homogeneizar a emulsão primária;

- remover o solvente orgânico a partir da emulsão primária;

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas com droga; e

- revestir as nano partículas com poloxamer 188.

3. Método para preparar um sistema de direcionamento de droga para administrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, o método caracterizado pelo fato que compreende as etapas de:

- solubilizar poli(LD-lactida) e/ou poli(LD-lactida-co-glicolida) em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- dissolver pelo menos uma substância farmacologicamente ativa em uma solução aquosa;

- derramar a solução aquosa na fase orgânica;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- derramar a emulsão primária em uma solução aquosa de TPGS;

- homogeneizar a mistura da emulsão primária e a solução aquosa de TPGS;

- remover o solvente orgânico a partir da mistura da

emulsão primária e da solução aquosa de um agente estabilizador selecionado a partir do grupo consistindo de álcoois de poli vinila, soro de albumina, TPGS e γ-ciclodextrin; e

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas de droga.

4. Método para a preparação de um sistema de direcionamento de drogas para administrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, o método caracterizado pelo fato que compreende as etapas de:

- solubilizar poli(LD-lactida) e/ou poli(LD-lactida-co-glicolida) em um solvente orgânico para obter uma fase orgânica;

- dissolver pelo menos uma substância farmacologicamente ativa em uma solução aquosa;

- derramar a solução aquosa na fase orgânica;

- emulsionar a mistura para obter uma emulsão primária;

- derramar a emulsão primária em uma solução aquosa de um agente estabilizador;

- homogeneizar a mistura da emulsão primária e a solução aquosa de um agente estabilizador;

- remover o solvente orgânico a partir da mistura da emulsão primária e da solução aquosa de um agente estabilizador selecionado a partir do grupo consistindo de álcoois de poli vinila, soro de albumina, TPGS e γ-ciclodextrin;

- filtrar a nano suspensão resultante compreendendo as nano partículas carregadas com droga; e

- revestir as nano partículas com poloxamer 188.

5. Método de acordo com a reivindicação 3 ou 4,

caracterizado pelo fato que o álcool de poli vinila tem um peso molecular de 30 - 70 kDa.

6. Método de acordo com a reivindicação 3 ou 4, caracterizado pelo fato que o soro de albumina é soro de albumina humano.

7. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato que a substância farmacologicamente ativa é um agente terapêutico ou um agente de diagnóstico.

8. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato que o agente terapêutico é selecionado a partir do grupo consistindo de drogas que atuam nos sites de junção sinóptica e neuro efetuador; analgésicos e anestésicos gerais e locais; hipnóticos e sedativos; drogas para o tratamento de desordens psiquiátricas tais como depressão e esquizofrenia; antiepilépticos e anticonvulsivos; drogas para o tratamento da doença de Huntington, envelhecimento e mal de Alzheimer; antagonistas de amino ácidos excitantes e fatores neuro trópicos e agentes neuro degenerativos; fatores tróficos; Drogas direcionadas para o tratamento de trauma do SNC ou derrame; drogas para o tratamento de dependência ou do abuso de drogas; drogas com autacóidos e antiinflamatórias; agentes quimos terapêuticos para infecções parasíticas e doenças microbiais; agentes imuno supressivos e drogas anticâncer; hormônios e antagonistas de hormônios; metais pesados e antagonistas de metais pesados; antagonistas para agentes tóxicos não metálicos; agentes citostáticos para o tratamento do câncer; substâncias de diagnóstico para o uso em medicina nuclear; agentes imuno ativos e imuno reativos; transmissores e os seus respectivos agonistas de receptores e antagonistas de receptores, os seus respectivos

precursores ou metabólicos; antibióticos, antiespasmódicos, anti histamínicos, antinauseantes, relaxantes, estimulantes, oligonucleótidos de "senso" e "anti-senso", dilatadores cerebrais, psicotrópicas, antimanias, dilatadores e constritores vasculares, anti hipertensivos, tratamento de enxaqueca, hipnóticos, agentes hiper- ou hipo-glicêmicos, agentes minerais ou nutricionais, drogas antiobesidade, anabólicos e antiasmáticos, e as misturas dos mesmos.

9. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato que a droga anti câncer é um agente anti neoplástico selecionado a partir do grupo consistindo de de alcalóides, agentes de alquilação tais como os sulfonatos de alquila, aziridinas, etileniminas e os metileniminas, mostardas de nitrogênio, nitrosouréias, os antibióticos e os análogos, preferivelmente antraciclinas, anti metabolito tais como análogos de ácido fólico, antagonistas de ácido fólico, análogos de purina e análogos de pirimidina, enzimas, imuno moduladores, imuno toxinas, anticorpos mono clonais, e os complexos de platina.

10. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato que o agente de diagnóstico é útil na diagnose para a medicina nuclear e para a terapia de radiação.

11. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato que o solvente orgânico é selecionado a partir do grupo consistindo de diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e as misturas dos mesmos.

12. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 7 a 19, caracterizado pelo fato que a nano suspensão é congelada a seco depois da adição de um agente de crio proteção.

13. Método de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato que o agente de crio proteção é manitol.

14. Método de acordo com a reivindicação 12 e 13, caracterizado pelo fato que o agente de crio proteção é adicionado as nano partículas em uma quantidade de 5% (w/v).

15. Sistema de direcionamento de droga para administrar uma substância farmacologicamente ativa ao sistema nervoso central de um mamífero através da sua barreira sanguínea cerebral, o sistema de direcionamento de droga compreendendo partículas feitas de poli(DL-lactida) e/ou poli(DL-lactida-co-glicolida), e pelo menos uma substância farmacologicamente ativa sendo absorvida pela, adsorvida pela, e/ou incorporada nas nano partículas, no qual o sistema contém TPGS ou compreende um revestimento de surfactante de pluronic 188 depositado sobre as partículas carregadas com droga, caracterizado pelo fato que o sistema foi preparado de acordo com um método de acordo com, qualquer uma das reivindicações de 1 a 14.

16. Sistema de direcionamento de droga de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato que as nano partículas compreendem partículas tendo um diâmetro abaixo de 1,000 nm, preferivelmente entre 100 e 800 nm, e mais preferivelmente um diâmetro entre 150 e 600 nm.

17. Método para o tratamento de uma doença ou de uma desordem do sistema nervoso central de um mamífero compreendendo as etapas de:

- preparar as nano partículas feitas de poli (DL-lactida) e/ou de poli (LD-lactida-co-glicolida);

- revestir as nano partículas de PLGA carregadas com droga com poloxamer 188;

- administrar as nano partículas revestidas com

poloxamer 188 e carregadas com droga na corrente sanguínea de um mamífero; e

- permitir com que a droga atinja o seu efeito farmacológico.

18. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato que a etapa de administração compreende uma administração oral ou intravenosa.

19. Uso do sistema de direcionamento de droga de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 ou 16 caracterizado pelo fato de ser para o tratamento de uma doença ou de uma desordem do sistema nervoso central de um mamífero.