



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

(21) **PI0802164-3 A2**



(22) Data de Depósito: 30/06/2008
(43) Data da Publicação: 02/03/2010
(RPI 2043)

(51) *Int.Cl.:*
A61K 31/4965 (2010.01)
A61K 31/4409 (2010.01)
A61K 31/496 (2010.01)
A61K 9/72 (2010.01)
A61K 9/19 (2010.01)
A61P 11/00 (2010.01)

(54) Título: **PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS PARA O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE E OUTRAS DOENÇAS PULMONARES E SUAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA USO EM AEROSSÓIS, INALADORES E NEBULIZADORES**

(73) Titular(es): Instituto Nacional de Tecnologia, Universidade Federal Fluminense, Universidade de São Paulo - USP, Universidade de São Paulo - USP, Universidade de São Paulo - USP

(72) Inventor(es): Alessandra Micherla Rodrigues do Nascimento, Ana Paula Campanelli, Fabio Moyses Lins Dantas, José Mauro Granjeiro, Thaís Helena Gasparoto

(57) Resumo: PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS PARA O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE E OUTRAS DOENÇAS PULMONARES E SUAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA USO EM AEROSSÓIS, INALADORES E NEBULIZADORES. A presente invenção diz respeito a um processo de preparação de nanopartículas contendo tuberculostáticos, particularmente, piraznamida (PZN), rifampicina (RFN) e/ou isoniazida (ISN) e suas composições farmacêuticas para o tratamento da tuberculose e outras doenças pulmonares que possuam ação pulmonar ou sistêmica. As nanopartículas são compostas de polímeros biodegradáveis e podem estar sob a forma de aerossóis, inaladores e nebulizadores. O processo consiste em emulsificar a PZN e a ISN para formar uma emulsão a/o; dissolver as substâncias não emulsionáveis, polímero ou polímero/RFN em solventes orgânicos; misturar a emulsão a/o e a solução orgânica dos hidrofóbicos para formar a mistura pré-emulsionada; adicionar a mistura pré-emulsionada, com o auxílio de um sistema injetor, a uma solução aquosa de emulsificante sob ultradispersão para formar a emulsão final; levar a emulsão final a evaporação, centrifugar, congelar e liofilizar. O processo da invenção permite a obtenção de nanopartículas de tuberculostáticos com controle rigoroso do tamanho de partícula preservando as características ativas dos compostos encapsulados.



PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS PARA O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE E OUTRAS DOENÇAS PULMONARES E SUAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA USO EM AEROSSÓIS, INALADORES E
5 **NEBULIZADORES.**

A presente invenção diz respeito a um processo de preparação de nanopartículas contendo tuberculostáticos, particularmente, pirazinamida (PZN), rifampicina (RFN) e isoniazida (ISN) e suas composições farmacêuticas para o tratamento da tuberculose e outras doenças pulmonares que possuam ação pulmonar ou sistêmica. As
10 nanopartículas são compostas de polímeros biodegradáveis e podem estar sob a forma de aerossóis, inaladores e nebulizadores.

A tuberculose no Brasil e no Mundo

A tuberculose é um problema de saúde global que vem crescendo a cada ano e se tornando cada vez mais perigosa. Por ano, a tuberculose mata cerca de 2 milhões de
15 pessoas no mundo e, por ser uma doença contagiosa, aproximadamente 8 milhões se infectam. O colapso nos sistemas de saúde, a emergência de casos de multi-resistência aos fármacos utilizados no combate à doença e o avanço dos casos de HIV/AIDS têm contribuído para o avanço da tuberculose.

O Brasil, segundo levantamento da Organização Mundial da Saúde (OMS),
20 ocupa atualmente a incômoda posição de 15º colocado em notificações de casos de tuberculose no mundo (WHO, 2007). Países com economias muito inferiores que o Brasil encontram-se em posição mais privilegiada neste ranking como Camboja, Moçambique e Zimbábue. Contudo, esse problema não se restringe apenas às dificuldades econômicas, mas também é fruto de uma série de deficiências de ordem
25 de política pública de saúde, tecnológica e cultural. Focando a questão tecnológica, o Brasil tem sérias restrições quanto à produção de medicamentos tuberculostáticos, principalmente, pela dependência da importação desses fármacos, agravada pela

restrita oferta destes no mercado internacional (drogas ou fármacos órfãos). Outro revés tecnológico é o pouco investimento em novos métodos terapêuticos, entre eles, aqueles que permitam uma maior adesão ao tratamento. Este último é preocupante porque o tratamento atual pressupõe o uso de, pelo menos, três ou mais medicamentos dependendo da resposta clínica do paciente. Devido ao excessivo número de comprimidos e cápsulas ingeridos por dia, o tratamento pode ser prejudicado, pois há sempre o risco do paciente esquecer algum dos medicamentos ou mesmo se achar incomodado à obrigação da ingestão regular da medicação. Há também o desconforto dos efeitos adversos; devido à toxicidade, principalmente da pirazinamida e isoniazida. Além disso, nem sempre os medicamentos estão disponíveis nos postos de saúde, o que pode provocar a suspensão e o abandono do tratamento. Com isso, o bacilo vai se tornando cada vez mais resistente e o tratamento acaba por demandar mais custos e revés para o paciente. A título de comparação, o tratamento adequado de um caso de tuberculose (seis meses de tratamento) custa R\$ 84,60 por paciente. Quando ocorre uma multi-resistência, o tratamento chega a ser quase R\$ 5.000,00 por ano (COSTA, 2005). Em matéria do Jornal O Globo de 16 de setembro de 2007, caderno Rio, uma clínica particular do município do Rio de Janeiro informou que chega a gastar R\$ 20 mil por mês com pacientes internados.

A tuberculose é causada por um bacilo, o *Mycobacterium tuberculosis*. Este não forma esporos, não possui flagelos e nem produz toxinas, sendo uma espécie aeróbia estrita, necessitando de oxigênio para crescer e se multiplicar. Possui período de geração longo, de 14 a 20 horas, sendo, geralmente, resistente à ação de agentes químicos.

O bacilo, ao ser inalado, é fagocitado pelo macrófago. O meio interno do macrófago, sendo ácido e pobre em oxigênio, se torna impróprio à atividade metabólica do bacilo, determinando, assim, numa redução da sua capacidade multiplicativa. Logo se compreende porque na lesão granulomatosa inicial, predominantemente macrofágica, a população bacteriana é pouco numerosa. Com a evolução da doença, forma-se o “caseum” sólido. Neste meio extracelular, cujo pH é

neutro e a pressão parcial de oxigênio é baixa, a população bacteriana reativa sua atividade metabólica.

O processo patogênico pode evoluir para a liquefação do “caseum”; este, ao ser eliminado por um canal de drenagem (um brônquio, por exemplo) dá origem à lesão cavitária no órgão lesado. No pulmão, esta lesão, rica em O₂ e revestida por induto caseoso de pH que varia de neutro a alcalino, oferece as condições ideais para o desenvolvimento do bacilo. Devido a este ciclo é que o tratamento da doença é composto por duas fases: a de ataque e a de manutenção.

A quimioterapia efetiva da tuberculose envolve o uso diário de 3 ou mais fármacos, por um período que pode variar de 6 meses a 2 anos. Os chamados fármacos de primeira linha, Pirazinamida (PZN), Rifampicina (RFN) e Isoniazida (ISN), são utilizados em combinação durante 6 meses. Os fármacos de segunda linha, além de serem mais tóxicos, são menos tolerados pelo paciente, sendo usados somente em casos de resistência devido aos efeitos adversos.

A PZN é administrada somente durante os primeiros 2 meses de tratamento juntamente com a ISN e a RFN, já que a PZN só atua na fase de multiplicação do bacilo. Ela possui atividade efetiva somente em meio ácido, sendo o fármaco mais propício para destruir o bacilo localizado no espaço intracelular e, portanto, capaz de intervir precocemente no ciclo patobiológico, já que sua ação se exerce na fase anterior à necrose de caseificação. Nos 4 meses restantes, administra-se somente RFN e ISN, que são efetivos no meio extracelular. Caso o paciente apresente resistência à ISN, o etambutol (ETB) ou estreptomicina (STM) podem ser incluídos no tratamento e este poderá durar além dos 6 meses previstos. O sucesso do tratamento depende, principalmente, da compreensão e adesão do paciente ao tratamento e o esquema de dosagem deve ser rigorosamente obedecido. Para maior eficiência no tratamento, a OMS desenvolveu o método chamado DOT (directly observed treatment), tratamento diretamente observado, no qual o paciente é acompanhado clinicamente por

profissionais de saúde. Esse método eleva os custos, mas permite um maior controle da doença e, por conseguinte, maior efetividade de cura.

Em virtude dos problemas envolvidos na quimioterapia atual, há a necessidade do desenvolvimento de terapias mais eficientes do ponto de vista farmacológico e clínico. Uma alternativa factível são os sistemas de liberação nos quais o fármaco possa ser liberado local e controladamente. Esses sistemas permitem a redução do número de dosagens diárias e elimina ou diminui os efeitos adversos. Neste enfoque, o uso de nanopartículas bioabsorvíveis contendo tuberculostáticos para veiculação pulmonar via aerossóis, inaladores e nebulizadores mostram-se promissores para o tratamento da tuberculose. O sistema aqui proposto será baseado em nanopartículas bioabsorvíveis, particularmente, de poli(ácido láctico) e copolímeros de ácido glicólico contendo RFN, ISN e PZN que deverão agir dentro e fora do macrófago.

Nos últimos anos, um esforço significativo tem sido voltado para o desenvolvimento de nanotecnologia para liberação de fármacos uma vez que esta técnica oferece meios adequados de liberação de pequenas partículas contendo o fármaco de interesse, assim como de macromoléculas (proteínas, peptídeos ou genes) para liberação vetorizada (PANYAM J.; LABHASETWAR V. Biodegradable Advanced Drug Delivery Reviews, v. 55, p. 329-347, 2003).

A tecnologia das nanopartículas

Os agentes de liberação focados em nanotecnologia são nanopartículas, nanocápsulas, nanogéis, sistemas micelares e conjugados formados por um polímero, natural ou sintético, biocompatível com o organismo humano. Estes sistemas propiciam a liberação direcionada da droga para tecidos ou células específicas, a fim de melhorar a biodisponibilidade oral, sustentar o efeito farmacológico de ativos liberados, tornarem solúveis certos fármacos para liberação intravascular, além de aumentar a estabilidade de agentes terapêuticos contra degradação enzimática (por nucleases e/ou proteases) especialmente de proteínas, peptídeos e ácidos nucleicos

(ALLÉMANN E.; LEROUX J.; GURNY R. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 34, p. 171-189, 1998).

As dimensões nanométricas desses novos sistemas oferecem grandes vantagens para liberação de fármacos. Devido aos tamanhos sub-celulares e submicrométricos, as nanopartículas podem penetrar profundamente em tecidos através de finos capilares, podem atravessar imperfeições presentes no revestimento epitelial e são eficientemente absorvidas pelas células. Além disso, modificando-se as propriedades do polímero utilizado como matriz, pode-se criar diferentes modulações de liberação de fármacos, bem como vetorizar as estruturas para sítios específicos de liberação (PANYAM J.; LABHASETWAR V. *Biodegradable Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 55, p. 329-347, 2003).

A função de endocitose ou fagocitose dos macrófagos é responsável pela eficiente liberação de agentes terapêuticos por meio desses novos agentes coloidais para estas células. Os macrófagos estão ampla e estrategicamente distribuídos em vários tecidos do corpo humano com a finalidade de reconhecer células alteradas, particulados invasores, assim como ligantes macromoleculares de membranas receptoras especializadas (MOGHIMI S. M.; HUNTER A. C.; MURRAY J. C. *Pharmacological Reviews*, v. 53, n. 2, p. 283-318, 2001.).

As nanopartículas possuem alta absorção celular quando comparadas às micropartículas (PANYAM J.; LABHASETWAR V. *Biodegradable Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 55, p. 329-347, 2003). Estudos prévios mostraram que nanopartículas com dimensões de 100 nm apresentaram absorção, em células Caco-2, duas vezes e meio maior quando comparadas a micropartículas de um (1) μm e de seis vezes maior quando comparadas a micropartículas de 10 μm . Resultados similares foram obtidos quando estas formulações foram testadas em um modelo intestinal de ratos, apresentando absorção de 15 a 250 vezes maior que a apresentada pelas micropartículas (PANYAM J.; LABHASETWAR V. *Biodegradable Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 55, p. 329-347, 2003).

As nanopartículas possuem diferentes denominações conforme a técnica utilizada para a sua obtenção, podendo-se obter nanocápsulas ou nanoesferas. Nanocápsulas são carreadores nanoparticulados compostos de um núcleo oleoso, no qual o fármaco está confinado, envolto por uma membrana polimérica contendo um surfactante hidrofílico e/ou lipofílico na interface (NISHIOKA Y; YOSHINO H. Lymphatic target with nanoparticles system. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 47, p. 55-64, 2001.). Por outro lado, as nanoesferas são matrizes nos quais o fármaco está fisicamente disperso, não necessariamente de forma uniforme, entretanto, sem a utilização de núcleo oleoso (QUINTANAR-GUERRERO D.; ALLÉMAN E.; DOELKER E.; FESSI H. *Pharmaceutical Research*, v. 15, n. 7, p. 1056-1062, 1998). Nanopartículas é o nome genérico para nanoesferas e nanocápsulas.

Como já mencionado, é utilizado um grande número de diferentes polímeros na produção das nanopartículas, que podem ser de origem natural ou sintética. Entre esses polímeros, pode-se citar: poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), policaprolactana, alginato, quitosana, copolímeros e modificados estruturais desses polímeros.

O uso de polímeros sintéticos biodegradáveis para veiculação humana começou nos anos 70, quando suturas a partir de polímeros sintetizados com ácido láctico e glicólico foram aprovadas pelo FDA (Food and Drug Administration) (SUN Y.; WATTS D. C.; JOHNSON J. R. et al. *American Pharmaceutical Review*, 2001. Disponível em: http://www.americanpharmaceuticalreview.com/past_articles.htm. Acessado em: 04/05/2002.). Atualmente, PLA (poli(ácido láctico)), PGA (poli(ácido glicólico)) e PLGA (poli(ácido láctico-co-glicólico)) possuem uma infinidade de aplicações, sendo utilizados em diversas áreas como alimentos (como filmes para embalagens, espessantes, estabilizantes), na agricultura, em segurança (roupas de proteção), higiene pessoal (absorventes, fraldas, cremes), entre outros (VAN VAN DE VELDE K.; KIEKENS P. *Polymer Testing*, v. 21, p. 433-442, 2002.).

Na medicina, a utilização desses polímeros pode ser dividida em três principais categorias: implantes cirúrgicos, produtos de cicatrização e liberação de fármacos.

Como cicatrizantes de ferimentos, são reabsorvidos pela pele após substituição do tecido lesado assim como em suturas, cliques e pequenas peças que são inseridas por cirurgias (VAN VAN DE VELDE K.; KIEKENS P. *Polymer Testing*, v. 21, p. 433-442, 2002). Estudos recentes sobre o uso de suturas utilizando copolímeros derivados do ácido láctico e glicólico demonstraram que estes polímeros não são tóxicos e são completamente biodegradáveis. Os polímeros biodegradáveis sintéticos são preferenciais em relação aos naturais porque são livres de imunogenicidade e suas propriedades físico-químicas são previsíveis e reprodutíveis (MOGHIMI S. M.; HUNTER A. C.; MURRAY J. C. *Pharmacological Reviews*, v. 53, n. 2, p. 283-318, 2001).

A presente patente dá ênfase aos alfa-hidroxi-ácidos de dois e três carbonos, pois além de possuírem um amplo uso na área biomédica, os polímeros derivados vêm sendo bastante investigados para a liberação de fármacos. Estes poliésteres, além de serem biodegradáveis, são também conhecidos como bioabsorvíveis, pois são hidrolisados quando implantados no organismo humano, formando grupamentos compatíveis e “metabolizáveis”. As nanopartículas desses polímeros são rapidamente removidas do sangue e concentradas no fígado, baço e medula (BRANNON-PEPPAS L. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 116, p. 1-9, 1995.).

A cristalinidade do polímero e a composição de comonômero também influenciam na biodegradação. Os polímeros racêmicos DL por serem menos cristalinos que os homopolímeros D ou L-láctico, são facilmente degradados, já que as regiões amorfas são mais rapidamente hidrolisadas. Polímeros de PLGA 50:50 (50% de ácido láctico e 50% de ácido glicólico) são mais rapidamente degradados devido a fácil hidrólise do ácido glicólico. Quanto menor a quantidade de ácido glicólico no polímero, mais lenta é a biodegradação, pois a cadeia se torna menos hidrofílica.

As nanopartículas são preparadas por dois métodos principais: conformação de polímeros pré-formados ou pela polimerização *in situ* do monômero. O processo de polimerização *in situ* pode ser classificado em dois métodos: interfacial e emulsão.

A encapsulação ou incorporação a partir de polímeros pré-formados é a técnica mais difundida e pode ser realizada por vários métodos. Estas técnicas apresentam similaridade como a fase orgânica, que contém o polímero e o fármaco, funcionando como uma fase interna durante o processo, e a solução aquosa contendo um estabilizante, constituindo o meio de dispersão das nanopartículas. Outra semelhança entre as técnicas é a pobre eficiência na encapsulação de fármacos de moderados a altamente solúveis em água, limitando os altos rendimentos a fármacos lipofílicos (QUINTANAR-GUERRERO D.; ALLÉMAN E.; DOELKER E.; FESSI H. Drug Development and Industrial Pharmacy, v. 24, n. 12, p. 1113-1128, 1998). As técnicas mais utilizadas são: método de deslocamento do solvente, salting-out, método de emulsificação/difusão e método de emulsificação/evaporação do solvente.

Método de deslocamento do solvente:

Este método é uma versão modificada do método de evaporação do solvente por utilizar solventes orgânicos solúveis em água como acetona, álcool ou metanol. Devido à difusão espontânea do solvente na fase aquosa, uma turbulência interfacial é criada entre as fases, levando a formação de pequenas partículas. O termo nanoprecipitação é frequentemente utilizado para definir o processo, já que a formação das nanopartículas é devido à agregação do polímero após a mudança de fase.

Uma das maiores dificuldades desta técnica é a escolha do sistema fármaco/polímero/solvente/não-solvente. Cada elemento deste sistema possui influência direta nas propriedades finais da nanopartícula. A concentração do polímero, por exemplo, pode afetar o diâmetro médio assim como a quantidade de emulsificante na fase aquosa. O solvente também possui influência na eficiência de encapsulação do fármaco; se o fármaco não tiver afinidade pelo solvente, ele pode migrar para a fase aquosa, resultando em nanopartículas com baixo conteúdo de fármaco (BODMEIER R.; MCGINITY J. W. International Journal of Pharmaceutical, v. 43, p. 179-186, 1988.).

Salting-out

Este método é baseado na separação de um solvente miscível em água da fase aquosa pelo efeito de “salting-out”. A acetona é o solvente miscível mais utilizado por se separar facilmente da fase aquosa pela adição de eletrólitos. O polímero e o fármaco são dissolvidos em acetona e esta solução é então emulsificada sob vigorosa agitação mecânica em um gel aquoso contendo um agente de salting-out e um estabilizador coloidal. Esta emulsão óleo em água é diluída com um volume adequado de água para aumentar a difusão da acetona na fase aquosa, formando as nanopartículas. O solvente e o agente de salting-out são eliminados por filtração contracorrente. Desta forma, a difusão da acetona durante a diluição pode gerar turbulência interfacial e agregação de polímero em nanopartículas (QUINTANAR-GUERRERO D.; ALLÉMANN E.; DOELKER E.; FESSI H. Drug Development and Industrial Pharmacy, v. 24, n. 12, p. 1113-1128, 1998).

A maior vantagem desta técnica é a possibilidade de incorporação de grandes quantidades de fármaco no polímero, gerando altos rendimentos. Uma vez obtido o sistema solvente/agente de “salting-out”/agente estabilizante não é mais necessário a procura por proporções específicas para a obtenção das nanopartículas (QUINTANAR-GUERRERO D.; ALLÉMANN E.; DOELKER E.; FESSI H. Drug Development and Industrial Pharmacy, v. 24, n. 12, p. 1113-1128, 1998).

Por outro lado, a técnica é limitada à fármacos lipofílicos, agentes de “salting-out” que não precipitam antes da separação de fase e estabilizantes solúveis. Dentre os agentes de “salting-out” que podem ser utilizados em acetona estão a sacarose e os eletrólitos cloreto de magnésio, cloreto de sódio, cloreto de cálcio e acetato de magnésio. Como agentes estabilizantes, o PVA, o PVP (polivinilpirrolidona) e a hidroxietilcelulose têm apresentado bons rendimentos (QUINTANAR-GUERRERO, 1998).

Método de emulsificação/difusão

Este método pode ser considerado com uma modificação do método anterior, sem o uso dos agentes de “salting-out” e purificação mais intensa. A técnica envolve a utilização de um solvente parcialmente solúvel em água, o qual é previamente saturado em água para garantir um equilíbrio termodinâmico inicial em ambos os líquidos. O polímero é dissolvido na solução saturada em água e, a fase orgânica é emulsificada sob vigorosa agitação em uma fase aquosa contendo um estabilizante. A adição subsequente de água ao sistema causa a difusão do solvente na fase externa, resultando na formação das nanopartículas. Dependendo do ponto de ebulição do solvente, este é eliminado por destilação ou filtração contra-corrente (QUINTANAR-GUERRERO D.; ALLÉMAN E.; DOELKER E.; FESSI H. Drug Development and Industrial Pharmacy, v. 24, n. 12, p. 1113-1128, 1998).

Esta técnica apresenta algumas vantagens em relação às demais apresentadas como o uso de solventes orgânicos menos tóxicos, altos rendimentos são obtidos, alta reprodutibilidade lote a lote e fácil aumento de escala. Entretanto, há alguns inconvenientes como a grande quantidade de água a ser eliminada e a difusão de fármacos hidrofílicos para a fase externa durante a emulsificação, podendo resultar em uma eficiência de encapsulação reduzida.

Método emulsificação/evaporação do solvente

Esta técnica é um método bem estabelecido baseado no procedimento clássico patenteado por Vanderhoff et al. Nesta técnica, o polímero é dissolvido em um solvente orgânico como diclorometano, clorofórmio ou acetato de etila. O fármaco é então dissolvido ou disperso na solução orgânica contendo o polímero. Esta nova solução é então introduzida em uma solução aquosa contendo uma agente emulsificante (gelatina, albumina, PVA, polisorbato 80, polaxamer 188). Após a formação de uma emulsão estável, a fase orgânica é evaporada sob pressão reduzida ou agitação contínua. O controle de tamanho é geralmente realizado pelo uso de ultrassom.

Emulsões água/óleo/água também têm sido usadas para preparar nanopartículas de fármacos solúveis em água (QUINTANAR-GUERRERO D.; ALLÉMAN E.; DOELKER E.; FESSI H. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 24, n. 12, p. 1113-1128, 1998). Embora o processo pareça simples, a técnica possui muitas
5 variáveis que podem influenciar no produto final como a solubilidade do fármaco e do polímero no solvente, o tipo de solvente orgânico, taxa de difusão do solvente na fase aquosa, tipo e concentração do emulsificante além dos passos posteriores de purificação (retirada de emulsificante residual) e secagem.

A maioria dos solventes orgânicos utilizados no processo é clorada; devido à
10 baixa solubilidade em água, apresentam fácil emulsificação, solubilizam bem os fármacos lipofílicos, além de possuírem baixo ponto de ebulição. Entretanto, estes solventes são desvantajosos devido à sua toxicidade (a maioria está classificada na classe 2, pelo Guideline of Residual Solvents do International Conference on Harmonization [ICH]) e devem ser limitados a fim de proteger o futuro paciente de
15 efeitos adversos.

O diclorometano é amplamente utilizado como solvente por possuir baixo ponto de ebulição, o que facilita a sua posterior retirada do sistema, e baixa solubilidade no meio aquoso, formando rapidamente uma emulsão. Devido à baixa solubilidade em água, o diclorometano forma gotas resultando em nanopartículas altamente esféricas
20 (JULIENNE M. C.; ALONSO M. J.; AMOZA G.; BENOIT J.P. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 18, n. 10, p. 1063-1077, 1992). Solventes orgânicos solúveis em água, como acetona e DMSO (sulfóxido de dimetila), acabam formando aglomerados poliméricos por se difundirem rapidamente no meio aquoso, prejudicando a formação das nanopartículas (BODMEIER R.; MCGINITY J. W.
25 *International Journal of Pharmaceutical*, v. 43, p. 179-186, 1988).

PVA e albumina têm sido usados como estabilizantes em meio aquoso. O PVA apresenta uma excelente estabilização no preparo das nanopartículas, não somente pelo método de emulsificação/evaporação como em todas as demais técnicas. É um

dos poucos estabilizantes que evita a agregação das nanopartículas após a preparação (durante purificação e liofilização), otimizando o rendimento sem a adição de outros adjuvantes.

A albumina também é muito utilizada como surfactante, substituindo o PVA.

5 Tanto a evaporação do solvente quanto a microfluidização, parecem não causar danos às moléculas de albumina, e a imunogenicidade da albumina adsorvida nas nanopartículas é a mesma de uma solução natural. Entretanto, a fonte (natural ou bovina) e o grau de pureza desta macromolécula são aspectos que podem limitar sua utilização.

10 O tipo e a concentração do estabilizante são fatores limitantes que podem afetar o tamanho e a polidispersão das nanopartículas obtidas por esta técnica. Julienne et al. (JULIENNE M. C.; ALONSO M. J.; AMOZA G.; BENOIT J.P. Drug Development and Industrial Pharmacy, v. 18, n. 10, p. 1063-1077, 1992) reportaram que nanoesferas foram conseguidas com alta velocidade de agitação (10.000 rpm/10 minutos),
15 utilizando 0,5% p/v de PVA; enquanto que, ao utilizar metilcelulose na mesma concentração, foram obtidas partículas maiores que 1 µm. Os autores acreditam que esta diferença é devido a maior redução interfacial de energia livre produzida pelo PVA.

A fração residual de PVA que permanece nas nanopartículas após purificação
20 afeta as propriedades físicas e absorção celular do produto final. Sahoo et al. formularam nanopartículas utilizando PLGA 85:15, modificando apenas a concentração do PVA e o tipo de solvente. Foi observado que a polaridade do solvente orgânico pode afetar a quantidade de PVA adsorvida nas nanopartículas. Quanto mais polar o solvente, maior a quantidade de PVA residual. Isto pode ser explicado pela
25 interação do PVA com a fase polimérica já que a fase orgânica está mais miscível com a aquosa (SAHOO S.; PANYAM J.; PRABHA S. et al. Journal of Controlled Release, v. 82, p. 105-114, 2002).

A homogeneização da emulsão é obtida por misturadores de alta velocidade (SOPPIMATH K. S.; AMINABHAVI T. M.; KULKARNI A. R.; RUDZINSKI W. E. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. Journal of Controlled Release, v. 70, p. 1-20, 2001). A agitação pode ser mecânica (rotações acima de 1.000 rpm) ou por ultra-som. A etapa de homogeneização é um passo limitante na obtenção das nanopartículas. Nanoesferas de ciclosporina foram obtidas após aumento na velocidade de homogeneização. Em velocidades de 1.000 rpm (por 30 minutos), micropartículas de aproximadamente 29 µm foram obtidas; utilizando-se 10.000 rpm (por 1 minuto), nanopartículas de aproximadamente 300 nm foram obtidas (SÁNCHEZ, 1993).

Na patente WO 03/099262 a técnica da emulsificação/evaporação do solvente é descrita. O documento estabelece um processo de produção de nanopartículas que compreende dissolver um polímero biodegradável em um solvente orgânico, emulsificar fazendo ao mesmo tempo uma sonicação e uma agitação e, por último, isolar e secar a nanopartícula. A substância ativa deve ser emulsificada de modo a se obter uma dupla emulsão ao final do processo do tipo a/o/a. O método proposto limita-se, basicamente, a proteínas e peptídeos. O processo proposto nesta patente prevê uma modificação do processo de emulsificação onde uma alta homogeneidade das nanopartículas é conseguida pelo uso simultâneo de uma agitação mecânica de alto cisalhamento (entre 4.000 e 15.000) e sonicação (frequência de 20 a 70 kHz). Contudo, este sistema não permite um controle rigoroso do tamanho de partícula que é definido por diversas variáveis, como concentração de emulsificante, sistema água/solvente orgânico, temperatura e natureza das substâncias aprisionadas nas nanopartículas. O controle do tamanho das partículas é fundamental para definir o poder de penetração nos tecidos e sua depuração pelo sistema renal e imunológico. Por exemplo, partículas inferiores a 40 nm podem chegar ao sistema linfático e acumular nesta região.

Especificamente no que se refere às nanopartículas de tuberculostáticos, a patente WO 2006/109317 mostra um processo de preparação de nanopartículas

contendo rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol que consiste em: i) preparar uma solução estável em DW/NS/PBS das drogas solúveis em água; ii) preparar uma solução das drogas instáveis em DW/NS/PBS; iii) preparar uma solução de polímero (PLG) e drogas hidrofóbicas em um solvente orgânico; misturar separadamente as soluções das etapas (i) e (ii) com a da etapa (iii) e fazer uma sonicação sob resfriamento. A emulsão obtida é adicionada a uma solução de PVA para ressonância sob resfriamento. Após a emulsão é agitada e centrifugada. As partículas são lavadas, reconstituídas e liofilizadas.

O sistema proposto no presente pedido é superior as técnicas até agora apresentadas por usar o sistema de ultradispersão e não o sistema de sonicação. Este último não permite um controle rigoroso do tamanho de partícula. Além disso, não levam em conta parâmetros como: velocidade de evaporação do solvente orgânico, pré-emulsão de fármacos hidrossolúveis, controle do tamanho de partículas pela relação das concentrações água/solvente orgânico/emulsificante e diâmetro da agulha de injeção. Através do controle desses parâmetros pode-se dominar a capacidade de encapsulamento (ou aprisionamento), qualidade, tamanho, distribuição de tamanho e a morfologia das nanopartículas.

A presente invenção fundamenta-se na técnica de emulsificação/evaporação, e supera as deficiências inerentes do estado da técnica pela invenção de um processo de fabricação de nanopartículas no qual é possível controlar o tamanho das partículas. No trabalho escrito por Song *et al*i (Colloids and Surfaces A: physicochem. Eng. Aspects. 276, 2006, 162-167), o autor aponta as bases físico-químicas para operacionalizar o tamanho de partículas. Sendo assim, verificamos agora que emulsificantes iônicos permitem partículas menores por estabilizarem melhor as partículas dos solventes orgânicos dispersos. Por sua vez, o solvente orgânico utilizado precisa possuir baixa hidrofobicidade para minimizar a agregação das gotículas. O controle desses parâmetros permite modular o tamanho das partículas mais a energia inicial de um sistema mecânico alto cisalhamento (ultradispersão) trabalhando acima de 14.000 rpm. A energia mecânica de alto cisalhamento é importante, porém não fundamental para a

estabilização do tamanho de partícula. Contudo, tamanhos de partículas submicrométricas são obtidas a partir de rotações entre 11.000 a 22.000 rpm. Rotações inferiores e ou superiores tendem a formar partículas com distribuição granulométrica de larga e/ou grosseira.

- 5 Portanto, os sistemas aqui reivindicados são modulados em cima destes conceitos, uma das principais diferenciações frente as propostas do estado da técnica.

Sistemas de formação de aerossóis

Três sistemas para formação de aerossóis podem ser encontrados no mercado e possuem extensa literatura sobre seus mecanismos:

- 10 a) Inalantes com dosagens medidas, MDI (*metered dosage inhaler*)
 b) Pó seco inalante
 c) Nebulizadores

Cada sistema possui sua peculiaridade e é dependente da área de atuação do fármaco no pulmão, das características químicas do fármaco, do design, do tipo da formulação,
 15 do tipo de paciente (criança, adulto, idoso, acamado ou não, deficiente, etc). Entretanto, uma das principais características são a formulação e o tamanho das partículas que forma o aerossol. Tirando o pó seco inalante, os demais mecanismos devem trabalhar com sistemas líquidos homogêneos e estáveis, ou seja, soluções, micro ou nanosuspensões ou emulsões. Isso é particularmente apropriado quando se
 20 trabalha com nanopartículas derivadas do presente produto. Nestes casos, quando se deseja a penetração até os alvéolos, a formação da nuvem de gotículas (*spray*) é otimizada quando há partículas em dimensões submicrométricas revestidas com material hidrofóbico, pois não há alteração do volume hidrodinâmico e a distribuição de tamanho de partícula é bastante estreita (GONDA I., Therapeutic aerosol
 25 IN:AULTON M.E.: Pharmaceutics:The science of dosage form design, 1996, Churchill Livigstone, Hong Kong, pag.341-358; VERVAT C. and BYRON. P.R.,

Drug-surfactant-propellant interactions in HFA-formulation, International Journal of Pharmaceutics, 186, 13-20,1999; BARON P.A. and WILLEKE K., Aerosol Measurement: principles, techniques and applications. 2nd ed,Willey Interscience, 2005).

5 As MDI diferenciam-se das nebulizadores nos seguintes quesitos:

- Velocidade de aspersão do aerosol: Nas MDIs a velocidade é maior o que promove certa perda do produto por impacto na vias respiratórias superiores. Nos nebulizadores, a velocidade é baixa e a presença da nuvem de aerossol constante permite uma maior penetração aos alvéolos.

10 - Portabilidade e aplicabilidade: As MDIs são de longe mais portáteis e mais adequadas à vida moderna, contudo, necessitam de certa coordenação no acionamento com a inspiração do usuário. Os nebulizadores são equipamentos relativamente grandes, mas para pessoas com dificuldades motoras, acamados e crianças pequenas tem grande aplicabilidade.

15 - Tamanho e distribuição de tamanho das partículas formadas: Nos nebulizadores o tamanho das partículas é menor de 1-5 μm e a distribuição de tamanho é mais estreita. Nas MDIs, o tamanho de partículas fica entre 1-10 μm e a distribuição tende a ser larga devido aos fenômenos de aglomeração.

Sumário da Invenção

20 É um objetivo da presente invenção prover um processo de preparação de nanopartículas contendo tuberculostáticos preservando as características ativas dos compostos encapsulados.

25 Outro objetivo da presente invenção é prover um método de fabricação de nanopartículas de tuberculostáticos capaz de ter um controle rigoroso do tamanho de partícula.

É ainda um objetivo da invenção, prover uma composição farmacêutica contendo as nanopartículas obtidas pelo processo da invenção e veículos farmaceuticamente aceitáveis.

5 Outro objetivo da invenção é prover uma composição farmacêutica para uso em aerossóis, inaladores e nebulizadores que possibilite a administração de pequenas quantidades de fármacos diminuindo ou eliminando efeitos adversos.

Outro objetivo da invenção é prover um medicamento no qual o fármaco possa ser liberado local e controladamente.

10 Outro objetivo da presente invenção é prover um método de tratamento da tuberculose que possibilite a administração de pequenas quantidades de fármacos diminuindo ou eliminando efeitos adversos.

Este e outros objetivos similares, vantagens e características da invenção ficarão mais claras ao longo da descrição detalhada da invenção.

Descrição detalhada da invenção

15 A presente invenção diz respeito a um processo de preparação de nanopartículas contendo polímeros biodegradáveis e tuberculostáticos, particularmente, pirazinamida (PZN), rifampicina (RFN) e/ou isoniazida (ISN) e suas composições farmacêuticas para o tratamento da tuberculose e outras doenças pulmonares que possuam ação pulmonar ou sistêmica.

20 O processo de fabricação das nanopartículas possuindo propriedades farmacêuticas melhoradas, de uma maneira geral, trata-se de um processo de fabricação de nanopartículas de polímeros bioabsorvíveis capaz de incorporar substâncias hidrofílicas (pirazinamida e isoniazida) e lipofílicas (rifampicina) e obter nanopartículas de alta estabilidade e apropriadas para uso em aerossóis, inaladores e
25 nebulizadores.

As nanopartículas obtidas pelo referido processo podem conter um ou mais fármacos em uma mesma partícula, de acordo com a sua aplicação terapêutica. O processo de fabricação das nanopartículas emprega o método de emulsificação/vaporização de solventes orgânicos e uso de polímeros bioabsorvíveis para incorporação de compostos. Pequenas variações no processo podem ocorrer de acordo com as características de hidrofílicas ou hidrofóbicas da substância a ser incorporada.

Os compostos hidrossolúveis, PZN e ISN, devem ser previamente emulsionados para formar uma emulsão água-em-óleo (a/o). A emulsão emprega emulsificantes usuais da técnica, preferivelmente, PVA, PVP, lecitina, gelatina, albumina, brometo de didodecil dimetil amônio, entre outros. Mais preferivelmente, PVA, lecitina e albumina.

As substâncias não emulsionáveis, polímero ou polímero/compostos lipossolúveis, RFN, são dissolvidos em solventes orgânicos classe 2 e 3 de baixa toxicidade. Solventes orgânicos apropriados incluem, mas não se limitam a diclorometano, acetona, etanol, acetato de etila, entre outros. Preferivelmente acetato de etila e diclorometano. A quantidade de solvente empregada depende da natureza química das substâncias que formam a nanopartícula podendo variar de 1 a 50% v/v. Esta solução de substâncias não emulsionadas é, então, colocada em ultrassom pelo tempo suficiente para promover a solubilização inicial do polímero e, em seguida, sob agitação mecânica para finalizar a solubilização.

Cabe ressaltar que para um efetivo aprisionamento dos fármacos, os polímeros bioabsorvíveis e a substância simples (hidrofílica emulsionada ou hidrofóbica) devem gerar um sistema final onde se observe a proporção de (1:1) a (1:10), preferivelmente, na proporção de (1:1). A composição exata do polímero/substância aprisionada é dependente da natureza química das substâncias e das características de liberação cinética desejável.

Os polímeros passíveis de serem empregados na presente invenção incluem biopolímeros sintéticos e naturais. Por exemplo, poli(ácido lático) e copolímeros, poli(ácido glicólico) e copolímeros, ácido poli- β -hidroxibutirato, ácido polihidróxivalérico, poliesteramidas, policianoacrilatos, poli(aminoácidos), polianidridos, policaprolactanas, alginato, quitosana, amido, entre outros. Particularmente, o poli(ácido lático) e copolímeros são desejados.

O peso molecular numérico médio ou viscosimétrico desses polímeros pode variar de 2.000 a 1.000.000. Preferencialmente, no caso do poli(ácido lático) e copolímeros, de 10.000 a 200.000 e para o PVA, PVP de 1.000 a 20.000. Os copolímeros de ácido lático e glicólicos e isômeros são importantes para a formação das nanopartículas e conferi-lhes versatilidade no que se refere à velocidade de biodegradação e, conseqüentemente, de liberação das drogas. As composições molares preferenciais de ácido lático e ácido glicólico são 5 a 95%.

Paralelamente, uma solução de emulsificante é preparada. Emulsificantes que podem ser empregados na invenção incluem PVA, PVP, carboximetilcelulose, lecitina, gelatina, albumina, surfactantes não iônicos como polioxietileno sorbitano de ésteres de ácido graxos (Tween 80, Tween 60 etc.), surfactantes aniônicos (brometo de didodecil dimetil amônio, lauril sulfato de sódio, estearato de sódio, etc), entre outros. Estes emulsificantes podem ser usados tanto em conjunto quanto separadamente. A concentração de emulsificante pode variar de 0,01 a 20% p/v. Preferencialmente entre 0,1 a 5% p/v.

Finalmente, ocorre o processamento da emulsificação utilizando-se um ultradispersor. A solução polímero/fármacos ou polímero e compostos hidrossolúveis emulsionados, PZN e ISN, são previamente misturadas mecanicamente depois são injetados por meio de agulhas de calibre entre 0,5 a 2 mm sobre uma solução aquosa com emulsificante. A dispersão deve ser realizada a uma velocidade de 11.000 a 22.000 rpm.

Uma variação do método consiste na obtenção de uma mistura *in situ* de alta homogeneidade de nanopartículas com composições internas diferenciadas (aprisionamentos de ativos diversos) através da injeção separada por meio de duas ou mais agulhas contendo solução dos fármacos, RFN, ou emulsão dos fármacos, ISN e PZN, com os polímeros conforme método descrito acima.

Agentes anti-espumantes podem ser empregados de modo a facilitar a dispersão e possibilitar o aprisionamento das nanopartículas, tais como alcoóis em geral, sais minerais e derivados do óleo de silicone.

Após a ultradispersão o sistema é levado à evaporação para a retirada do solvente orgânico e centrifugado. A evaporação pode ser realizada em evaporador rotatório a uma velocidade de evaporação do solvente orgânico de 0,1 a 40 g/horas.

O material decantado é congelado e liofilizado obtendo-se a nanopartícula em uma forma que poderá ser incorporado as formulações farmacêuticas de administração pulmonar, particularmente, aerossóis, nebulizadores e inaladores.

A dimensão das nanopartículas obtidas pelo processo da invenção variam de 20 a 500 nm e são medidas por análise de imagem microscópica, potencial zeta ou difração de luz.

A concentração dos fármacos pode variar de acordo com as necessidades terapêuticas dos pacientes. Concentrações usuais de pirazinamida adequadas estão compreendidas na faixa de 10 a 2.000 mg/dia. A rifampicina está numa faixa de 10 a 600 mg/dia e a isoniazida de 5 a 900 mg/dia. Um técnico no assunto saberá determinar qual o teor de fármaco que deverá ser incorporado as nanopartículas para produzir o efeito terapêutico desejado.

As nanopartículas obtidas pelo processo da presente invenção podem ser formuladas em aerossóis ou soluções para nebulização em formulações diversas conforme premissas do estado da arte de tais formas farmacêuticas. No caso dos aerossóis, os principais componentes são o agente propelente, agente emulsificante,

agente tamponante, agente salino, substância dispersora e emulsificantes. Entre os agentes propelentes citam-se derivados de hidrocarbonetos fluorados, ar e dióxidos de carbono, mais notadamente derivados do HFA. Agentes tamponantes citam-se acetato de sódio, fosfatos de sódio, carbonatos. Agentes salinos citam-se cloreto de sódio, acetato de sódio, cloreto de potássio. Substâncias dispersoras compreendem a água, solução de água/etanol, sucrose, glicerina, dextrose. Substância emulsificantes PVA, PVP, lecitina, sorbitol, polisorbatos, polietilenoglicol, albumina.

- As nanopartículas podem estar presentes na formulação em concentrações que dependem da potência do fármaco, podendo variar de 0,001% a 20% no produto final.
- Os exemplos a seguir são meramente ilustrativos da invenção, mas de forma alguma são limitativos do escopo de proteção.

Exemplo 1: Produção de nanopartículas contendo pirazinamida, isoniazida e rifampicina

- Pré-emulsão e mistura:** Devem ser pesadas pirazinamida e isoniazida e dissolver em 10 ml de solução 0,1% de PVP e deixar sob agitação por 12 horas. Em seguida, essa solução deve ser injetada em 90 ml de diclorometano sobre o vórtex do ultradispersor a 14.000 rpm e sistema deixado sob agitação por 5 minutos. Registrar a temperatura da dispersão com um termômetro calibrado. Medir a condutância e o pH da dispersão (esperar estabilizar). Paralelamente, devem ser pesados a rifampicina e poli(ácido láctico) PM 10.000 e solubilizados em 10 ml de diclorometano. A emulsão a/o e a solução orgânica devem ser misturadas mecanicamente ao final.

- Processamento da emulsificação:** Deve-se utilizar um ultradispersor para preparar a emulsão final girando a 14.000 rpm. Em béquer de 300 ml, devem ser adicionados 150 ml da solução de PVP 5%. A mistura pré-emulsionada deve ser adicionada no vórtice da agitação por meio de uma agulha com diâmetro interno de aproximadamente de 2 mm. Deve ser usado etanol absoluto como agente antiespumante para facilitar a dispersão e possibilitar o aprisionamento dos fármacos nas nanopartículas. Em

seguida, o sistema deve ser levado ao evaporador rotatório para retirar o solvente orgânico a 10g/hora e depois ser centrifugado. O material decantado deve ser congelado por 24 horas e liofilizado em seguida. Devem-se obter partículas com dimensões entre 200-500 nm.

- 5 **Produção de aerossol:** solução 1% da nanopartículas deve ser dispersa em solução 0,1% de carboximetilcelulose. Essa nanodispersão é misturada ao HFA liquefeito por meio de envasadores e lacrada hermeticamente com uma válvula que controla a medida das dosagens (MDI).

10 Exemplo 2: Produção de nanopartículas contendo pirazinamida, isoniazida e rifampicina

- Pré-emulsão e mistura:** Devem ser pesadas pirazinamida e isoniazida e dissolver em 10 ml de solução 0,2% de didodecil dimetil amônio (BDDA) e deixar sob agitação por 12 horas. Em seguida, essa solução deve ser injetada em 90 ml de acetato de etila saturado com água sobre o vórtex do ultradispersor a 22.000 rpm e sistema deixado sob agitação por 5 minutos. Registrar a temperatura da dispersão com um termômetro calibrado. Medir a condutância e o pH da dispersão (esperar estabilizar). Deve ser pesados a rifampicina e o poli(ácido láctico) PM 20.000 e solubilizados em 10 ml de acetato de etila saturado com água. A emulsão a/o e a solução orgânica devem ser misturadas mecanicamente ao final.

- Processamento da emulsificação:** Deve ser utilizado um ultradispersor girando a 22.000 rpm para preparar a emulsão. Em béquer de 300 ml, deve ser adicionado 150 ml da solução 0,2% de BDDA. A mistura pré-emulsionada deve ser adicionada no vórtice da agitação por meio de uma agulha com diâmetro interno de aproximadamente de 0,5 mm. Deve ser usado etanol absoluto com agente antiespumante para facilitar a dispersão e possibilitar o aprisionamento dos fármacos nas nanopartículas. Em seguida, o sistema deve ir para um evaporador rotatório para a

retirada do solvente orgânico a 40g/hora e centrifugado em seguida. O material decantado deve ser congelado e liofilizado. Obtêm-se partículas com dimensões entre 40-150 nm.

Produção de aerossol: solução contendo 1% de nanopartículas deve ser dispersa em solução 0,1% de carboximetilcelulose. Essa nanodispersão é misturada ao HFA liquefeito por meio de envasadores e lacrada hermeticamente com uma válvula que controla a medida das dosagens (MDI).

10 Exemplo 3: Produção de nanopartículas contendo pirazinamida, isoniazida e rifampicina

Pré-emulsão e mistura: Devem ser pesadas pirazinamida e isoniazida e dissolver em 10 ml de solução 0,5% de lecitina e deixar sob agitação por 12 horas. Em seguida, essa solução deve ser injetada em 90 ml de diclorometano sobre o vórtex do ultradispersor a 14.000 rpm e sistema deixado sob agitação por 5 minutos. Registrar a temperatura da dispersão com um termômetro calibrado. Medir a condutância e o pH da dispersão (esperar estabilizar). Paralelamente, devem ser pesados a rifampicina e poli(ácido láctico co ácido glicólico) 25-75 PM 20.000 e solubilizados em 10 ml de diclorometano. A emulsão a/o e a solução orgânica devem ser misturadas mecanicamente ao final.

20 **Processamento da emulsificação:** Deve ser utilizado um ultradispersor girando a 14.000 rpm para preparar a emulsão. Em béquer de 300 ml, deve ser adicionado 150 ml da solução 0,5% de lecitina. A mistura pré-emulsionada deve ser adicionada no vórtice da agitação por meio de uma agulha com diâmetro interno de aproximadamente de 1 mm. Deve ser usado etanol absoluto com agente antiespumante para facilitar a dispersão e possibilitar o aprisionamento dos fármacos nas nanopartículas. Em seguida, o sistema deve ir para um evaporador rotatório para a retirada do solvente orgânico a 10g/hora e centrifugado em seguida. O material

decantado deve ser congelado e liofilizado. Obtêm-se partículas com dimensões entre 50-200 nm.

Solução para nebulização: solução contendo 1% de nanopartículas deve ser dispersa em solução 1% de PVP.

5

Exemplo 4: Produção de nanopartículas contendo pirazinamida, isoniazida e rifampicina

Pré-emulsão e mistura: Devem ser pesadas pirazinamida e isoniazida e dissolver em 10 ml de solução 0,2% de didodecil dimetil amônio (BDDA) e deixar sob agitação por 10 12 horas. Em seguida, essa solução deve ser injetada em 90 ml de acetato de etila saturado com água sobre o vórtex do ultradispersor a 22.000 rpm e sistema deixado sob agitação por 5 minutos. Registrar a temperatura da dispersão com um termômetro calibrado. Medir a condutância e o pH da dispersão (esperar estabilizar). Paralelamente, devem ser pesados a rifampicina e poli(ácido lático co ácido glicólico) 15 50-50 PM 55.000 e solubilizados em 10 ml de diclorometano. A emulsão a/o e a solução orgânica devem ser misturadas mecanicamente ao final.

Processamento da emulsificação: Deve ser utilizado um ultradispersor girando a 22.000 rpm para preparar a emulsão. Em béquer de 300 ml, deve ser adicionado 150 ml da solução 0,5% de lecitina. A mistura pré-emulsionada deve ser adicionada no 20 vórtice da agitação por meio de uma agulha com diâmetro interno de aproximadamente de 2 mm. Deve ser usado etanol absoluto com agente antiespumante para facilitar a dispersão e possibilitar o aprisionamento dos fármacos nas nanopartículas. Em seguida, o sistema deve ir para um evaporador rotatório para a retirada do solvente orgânico a 10g/hora e centrifugado em seguida. O material 25 decantado deve ser congelado e liofilizado. Obtêm-se partículas com dimensões entre 100-500 nm.

Produção de inaladores: solução contendo 1% de nanopartículas deve ser dispersa em solução 0,1% de carboximetilcelulose. Essa nanodispersão é misturada ao HFA liquefeito por meio de envasadores e lacrada hermeticamente com uma válvula que controla a medida das dosagens.

5

Exemplo 5: Produção de nanopartículas contendo pirazinamida, isoniazida e rifampicina

Pré-emulsão e mistura: Devem ser pesadas pirazinamida e isoniazida e dissolver em 10 ml de solução 5% PVA e deixar sob agitação por 12 horas. Em seguida, essa
10 solução deve ser injetada em 90 ml de diclorometano sobre o vórtex do ultradispersor a 14.000 rpm e sistema deixado sob agitação por 5 minutos. Registrar a temperatura da dispersão com um termômetro calibrado. Medir a condutância e o pH da dispersão (esperar estabilizar). Paralelamente, devem ser pesados a rifampicina e poli(ácido láctico) PM 17.000 e solubilizados em 10 ml de diclorometano. A emulsão a/o e a
15 solução orgânica devem ser misturadas mecanicamente ao final.

Processamento da emulsificação: Deve ser utilizado um ultradispersor girando a 14.000 rpm para preparar a emulsão. Em béquero de 300 ml, deve ser adicionado 150 ml da solução solução 5% de PVA. A mistura pré-emulsionada deve ser adicionada no vórtice da agitação por meio de uma agulha com diâmetro interno de
20 aproximadamente de 2 mm. Deve ser usado etanol absoluto com agente antiespumante para facilitar a dispersão e possibilitar o aprisionamento dos fármacos nas nanopartículas. Em seguida, o sistema deve ir para um evaporador rotatório para a retirada do solvente orgânico a 10g/hora e centrifugado em seguida. O material decantado deve ser congelado e liofilizado. Obtêm-se partículas com dimensões entre
25 100-500 nm.

Produção de aerossol: solução contendo 5% de nanopartículas deve ser dispersa em solução. Essa nanodispersão é misturada à HFA liquefeito por meio de envasadores e lacrada hermeticamente com uma válvula que controla a medida das dosagens (MDI).

5 Exemplo 6: Produção de nanopartículas contendo pirazinamida

Pré-emulsão e mistura: Devem ser pesadas pirazinamida e dissolver em 10 ml de solução 5% PVA e deixar sob agitação por 12 horas. Em seguida, essa solução deve ser injetada em 90 ml de diclorometano sobre o vórtex do ultradispersor a 14.000 rpm e sistema deixado sob agitação por 5 minutos. Registrar a temperatura da dispersão com um termômetro calibrado. Medir a condutância e o pH da dispersão (esperar estabilizar). Paralelamente, deve ser pesado poli(ácido láctico) PM 17.000 e solubilizados em 10 ml de diclorometano e misturado mecanicamente à emulsão preparada anteriormente.

Processamento da emulsificação: Deve ser utilizado um ultradispersor girando a 14.000 rpm para preparar a emulsão. Em béquer de 300 ml, deve ser adicionado 150 ml da solução solução 5% de PVA. A mistura emulsionada deve ser adicionada no vórtice da agitação por meio de uma agulha com diâmetro interno de aproximadamente de 2 mm. Deve ser usado etanol absoluto com agente antiespumante para facilitar a dispersão e possibilitar o aprisionamento dos fármacos nas nanopartículas. Em seguida, o sistema deve ir para um evaporador rotatório para a retirada do solvente orgânico a 10g/hora e centrifugado em seguida. O material decantado deve ser congelado e liofilizado. Obtêm-se partículas com dimensões entre 100-500 nm.

Produção de aerossol: solução contendo 5% de nanopartículas deve ser dispersa em solução. Essa nanodispersão é misturada à HFA liquefeito por meio de envasadores e lacrada hermeticamente com uma válvula que controla a medida das dosagens (MDI).

Exemplo 7: Produção de nanopartículas contendo pirazinamida e isoniazida

Pré-emulsão e mistura: Devem ser pesadas pirazinamida e isoniazida e dissolver em 10 ml de solução 5% PVA e deixar sob agitação por 12 horas. Em seguida, essa solução deve ser injetada em 90 ml de diclorometano sobre o vórtex do ultradispersor a 14.000 rpm e sistema deixado sob agitação por 5 minutos. Registrar a temperatura da dispersão com um termômetro calibrado. Medir a condutância e o pH da dispersão (esperar estabilizar). Paralelamente, deve ser pesado poli(ácido lático) PM 10.000 e solubilizados em 10 ml de diclorometano e misturado mecanicamente à emulsão preparada anteriormente.

- 10 **Solução fármaco/polímeros:** Deve ser pesados a rifampicina e poli(ácido lático) PM 10.000 e solubilizados em 10 ml de diclorometano.

Processamento da emulsificação: Deve-se utilizar um ultradispersor para preparar a emulsão final girando a 14.000 rpm. Em béquer de 300 ml, devem ser adicionados 150 ml da solução de PVP 5%. A solução rifampicina/poli(ácido acrílico) e a solução de rifampicina devem ser adicionadas simultaneamente no vórtice da agitação por meio de agulhas, em sistemas independentes, com diâmetro interno de aproximadamente de 2 mm. Deve ser usado etanol absoluto como agente antiespumante para facilitar a dispersão e possibilitar o aprisionamento dos fármacos nas nanopartículas. Em seguida, o sistema deve ser levado ao evaporador rotatório para retirar o solvente orgânico a 10g/horas e depois ser centrifugado. O material decantado deve ser congelado por 24 horas e liofilizado em seguida. Devem-se obter partículas com dimensões entre 100-500 nm.

Produção de aerossol: solução contendo 1% de nanopartículas deve ser dispersa em solução 0,1% de carboximetilcelulose. Essa nanodispersão é misturada à HFA liquefeito por meio de envasadores e lacrada hermeticamente com uma válvula que controla a medida das dosagens (MDI).

Exemplo 8: Mistura *in situ* de nanopartículas

Solução fármaco/polímeros: Deve ser pesados a rifampicina e poli(ácido láctico) PM 10.000 e solubilizados em 10 ml de diclorometano.

- Processamento da emulsificação:** Deve-se utilizar um ultradispersor para preparar a emulsão final girando a 14.000 rpm. Em béquer de 300 ml, devem ser adicionados 150 ml da solução de PVP 5%. A solução rifampicina/poli(ácido láctico) deve ser adicionada no vórtice da agitação por meio de uma agulha com diâmetro interno de aproximadamente de 2 mm. Simultaneamente deve-se adicionar a emulsão contendo os fármacos. Deve ser usado etanol absoluto como agente antiespumante para facilitar a dispersão e possibilitar o aprisionamento dos fármacos nas nanopartículas. Em seguida, o sistema deve ser levado ao evaporador rotatório para retirar o solvente orgânico a 10g/horas e depois ser centrifugado. O material decantado deve ser congelado por 24 horas e liofilizado em seguida. Devem-se obter partículas com dimensões entre 100-500 nm.
- Produção de aerossol:** solução contendo 1% de nanopartículas deve ser dispersa em solução 0,1% de carboximetilcelulose. Essa nanodispersão é misturada à HFA liquefeito por meio de envasadores e lacrada hermeticamente com uma válvula que controla a medida das dosagens (MDI).

REIVINDICAÇÕES

1. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS caracterizado por compreender as seguintes etapas:

- 5 a) emulsificar os compostos hidrossolúveis, pirazinamida e/ou isoniazida, para formar uma emulsão a/o;
- b) dissolver as substâncias não emulsionáveis, polímero ou polímero/rifampicina em solventes orgânicos classe 2 e 3 de baixa toxicidade;
- 10 c) misturar os produtos da etapa a) e b) para formar a mistura pré-emulsionada;
- d) Adicionar a mistura pré-emulsionada, com o auxílio de um sistema injetor, a uma solução aquosa de emulsificante sob ultradispersão para formar a emulsão final;
- 15 e) Levar a emulsão final a evaporação, centrifugar, congelar e liofilizar.

2. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato dos emulsificantes empregados para formar a emulsão a/o serem selecionados de poli(álcool vinílico), polivinilpirrolidona, lecitina, gelatina, albumina, brometo de didodecil dimetil amônio.

20

3. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com a reivindicação 2 caracterizado pelo fato do emulsificante ser poli(álcool vinílico), lecitina ou albumina.

25

4. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com as reivindicações 1 a 3 caracterizado pelo fato dos solventes orgânicos classe 2 e 3 serem diclorometano, acetona, etanol ou acetato de etila.

30

5. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a quantidade de solventes orgânicos classes 2 e 3 estar compreendida na faixa de 1 a 50% p/v.

5

6. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 1 a 5 caracterizado pelo fato que os polímeros são selecionados de poli(ácido láctico) e copolímeros, poli(ácido glicólico) e copolímeros, ácido poli- β -hidroxibutirato, ácido polihidróxivalérico, poliesteramidas, policianoacrilatos, poli(aminoácidos), polianidridos policaprolactanas, alginato, quitosana, amido.

10

7. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 6 caracterizado pelo fato que o peso molecular numérico médio ou viscosimétrico desses polímeros pode variar de 2.000 a 1.000.000.

15

8. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 6 caracterizado pelo fato que o polímero é o poli(ácido láctico) e seus copolímeros.

20

9. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 8 caracterizado pelo fato que o peso molecular numérico médio ou viscosimétrico do poli(ácido láctico) e seus copolímeros estão compreendidos na faixa de 10.000 a 200.000.

25

10. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 6 caracterizado pelo fato que os copolímeros de ácido láctico e glicólico estão presentes em composições molares que variam de 5 a 95%.

30

11. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 1 a 10 caracterizado pelo fato que a relação entre polímero e fármaco aprisionado é de 1:1 a 1:10.

12. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 11 caracterizado pelo fato que a relação entre polímero e fármaco aprisionado é de 1:1.

13. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 1 a 12 caracterizado pelo fato que a concentração final dos fármacos possam ser ajustadas para as faixas terapêuticas de 10 a 2.000 mg/dia de pirazinamida, 10 a 600 mg/dia de rifampicina e 5 a 900 mg/dia de isonoazida.

14. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 1 a 13 caracterizado pelo fato da solução aquosa de emulsificante empregar os emulsificantes poli(álcool vinílico), polivinilpirrolidona, carboximetilcelulose, lecitina, gelatina, albumina, surfactantes não iônicos como polioxietileno sorbitano de ésteres de ácido graxos (Tween 80, Tween 60), surfactantes aniônicos (brometo de didodecil dimetil amônio, lauril sulfato de sódio, estearato de sódio em conjunto ou separadamente).

15. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 14 caracterizado pelo fato da concentração de emulsificante estar compreendida na faixa de 0,01 a 20% p/v.

16. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 15 caracterizado pelo fato da concentração de emulsificante estar compreendida na faixa de 0,1 a 5 p/v.

5

17. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 1 a 16 caracterizado pelo fato que o sistema injetor possui agulhas de calibre entre 0,5 a 2 mm.

10

18. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 1 a 17 caracterizado pelo fato que a dispersão da emulsão final é realizada na velocidade de 11.000 a 22.000 rpm.

15

19. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 1 a 18 caracterizado pelo fato de adicionalmente serem empregados agentes antiespumantes na solução aquosa emulsificante.

20

20. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 19 caracterizado pelo fato dos agentes antiespumantes serem selecionados de alcoóis, sais minerais e derivados do óleo de silicone.

25

21. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 20 caracterizado pelo fato de que o agente antiespumante é etanol.

22. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 1 a 21 caracterizado pelo fato de que a evaporação pode ser realizada em evaporador rotatório a uma velocidade de evaporação do solvente orgânico de 0,1 a 40 g/hora.

23. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** caracterizado por compreender as seguintes etapas:

- a) emulsificar os compostos hidrossolúveis, pirazinamida e/ou isoniazida, para formar uma emulsão a/o;
- b) dissolver as substâncias não emulsionáveis, polímero ou polímero/rifampicina em solventes orgânicos classe 2 e 3 de baixa toxicidade;
- c) Adicionar simultaneamente os produtos da etapa a) e b), com o auxílio de sistemas injetores, a uma solução aquosa de emulsificante sob ultradispersão para formar a emulsão final;
- d) Levar a emulsão final a evaporação, congelar e liofilizar.

24. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 23 caracterizado pelo fato dos emulsificantes empregados para formar a emulsão a/o serem selecionados de poli(álcool vinílico), polivinilpirrolidona, lecitina, gelatina, albumina, brometo de didodecil dimetil amônio.

25. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 24 caracterizado pelo fato do emulsificante ser poli(álcool vinílico), lecitina ou albumina.

26. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 23 a 25

caracterizado pelo fato dos solventes orgânicos classe 2 ou 3 serem diclorometano, acetona, etanol ou acetato de etila.

5 **27. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 26 caracterizado pelo fato de que a quantidade de solventes orgânicos classe 2 e 3 estar compreendida na faixa de 1 a 50% p/v.

10 **28. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 23 a 27 caracterizado pelo fato que os polímeros são selecionados de poli(ácido láctico) e copolímeros, poli(ácido glicólico) e copolímeros, ácido poli-β-hidroxibutirato, ácido polihidroxivalérico, poliesteramidas, policianoacrilatos, poli(aminoácidos), polianidridos
15 policaprolactanas, alginato, quitosana, amido.

29. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com a reivindicação 28 caracterizado pelo fato que o peso molecular numérico médio ou viscosimétrico desses
20 polímeros pode variar de 2.000 a 1.000.000.

30. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com a reivindicação 28 caracterizado pelo fato que o polímero é o poli(ácido láctico) e seus copolímeros.

25 **31. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 30 caracterizado pelo fato que o peso molecular numérico médio ou viscosimétrico do poli(ácido láctico) e seus copolímeros estão compreendidos na faixa de 10.000 a 200.000.

32. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com a reivindicação 28 caracterizado pelo fato que os copolímeros de ácido láctico e glicólico estão presentes em composições molares que variam de 5 a 95%.

5

33. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com as reivindicações 23 a 32 caracterizado pelo fato que a relação entre polímero e substância aprisionada, hidrofílica emulsionada ou hidrofóbica, é de 1:1 a 1:10.

10

34. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com a reivindicação 33 caracterizado pelo fato que a relação entre polímero e substância aprisionada, hidrofílica emulsionada ou hidrofóbica, é de 1:1.

15

35. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com as reivindicações 23 a 34 caracterizado pelo fato que a concentração final dos fármacos possam ser ajustadas para as faixas terapêuticas de 10 a 2.000 mg/dia de pirazinamida, 10 a 600 mg/dia de rifampicina e 5 a 900 mg/dia de isonoazida.

20

36. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com as reivindicações 23 a 35 caracterizado pelo fato da solução aquosa de emulsificante empregar os emulsificantes poli(álcool vinílico), polivinilpirrolidona, carboximetilcelulose, lecitina, gelatina, albumina, surfactantes não iônicos como polioxietileno sorbitano de ésteres de ácido graxos (Tween 80, Tween 60), surfactantes aniônicos (brometo de didodecil dimetil amônio, lauril sulfato de sódio, estearato de sódio em conjunto ou separadamente).

25

30

37. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com a reivindicação 36 caracterizado pelo fato da concentração de emulsificante estar compreendida na faixa de 0,01 a 20% p/v.

5

38. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com a reivindicação 37 caracterizado pelo fato da concentração de emulsificante estar compreendida na faixa de 0,1 a 5 p/v.

10

39. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com as reivindicações 23 a 38 caracterizado pelo fato que o sistema injetor possui agulhas de calibre entre 0,5 a 2 mm.

15

40. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com as reivindicações 23 a 39 caracterizado pelo fato que a dispersão da emulsão final é realizada na velocidade de 11.000 a 22.000 rpm.

20

41. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com as reivindicações 23 a 39 caracterizado pelo fato de adicionalmente serem empregados agentes antiespumantes na solução aquosa emulsificante.

25

42. PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS de acordo com a reivindicação 41 caracterizado pelo fato dos agentes antiespumantes serem selecionados de alcoóis, sais minerais e derivados do óleo de silicone.

30

43. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com a reivindicação 42 caracterizado pelo fato de que o agente antiespumante é etanol.

5 44. **PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 23 a 43 caracterizado pelo fato de que a evaporação pode ser realizada em evaporador rotatório a uma velocidade de evaporação do solvente orgânico de 0,1 a 40 g/hora.

10 45. **NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** caracterizadas por serem obtidas de acordo com os processos das reivindicações 1 a 22.

15 46. **NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** caracterizadas por serem obtidas de acordo com os processos das reivindicações 23 a 44.

47. **NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** de acordo com as reivindicações 45 e 46 caracterizadas por terem tamanho de 20 a 500 nm.

20 48. **NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** caracterizadas por conter pirazinamida, isoniazida e rifampicina e terem sido obtidas de acordo com os processos descritos nas reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44.

25 49. **NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** caracterizadas por conter pirazinamida e terem sido obtidas de acordo com os processos descritos nas reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44.

30 50. **NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** caracterizadas por conter isoniazida e terem sido obtidas de acordo com os processos descritos nas reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44.

51. NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS caracterizadas por conter rifampicina e terem sido obtidas de acordo com os processos descritos nas reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44.

5 **52. NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** caracterizadas por conter pirazinamida e isoniazida e terem sido obtidas de acordo com os processos descritos nas reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44.

10 **53. NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** caracterizadas por conter pirazinamida e rifampicina e terem sido obtidas de acordo com os processos descritos nas reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44.

15 **54. NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS** caracterizadas por conter isoniazida e rifampicina e terem sido obtidas de acordo com os processos descritos nas reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44.

20 **55. USO DE NANOPARTÍCULAS** caracterizadas por serem obtidas de acordo com os processos das reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44 para o tratamento da tuberculose e outras doenças pulmonares.

56. USO DE NANOPARTÍCULAS caracterizadas por serem obtidas de acordo com os processos das reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44 para a formulação de inaladores, nebulizadores e aerossóis.

25 **57. INALADOR, NEBULIZADOR E AEROSSOL** caracterizadas por conter nanopartículas obtidas de acordo com os processos das reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44.

58. FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA caracterizada por conter as nanopartículas obtidas de acordo com os processos das reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44 e excipientes farmacêuticamente aceitáveis.

5 **59. PRODUTO** caracterizado por conter nanopartículas obtidas de acordo com os processos das reivindicações 1 a 22 e/ou 23 a 44.

RESUMO**PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TUBERCULOSTÁTICOS PARA O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE E OUTRAS DOENÇAS PULMONARES E SUAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA USO EM AEROSSÓIS, INALADORES E NEBULIZADORES.**

A presente invenção diz respeito a um processo de preparação de nanopartículas contendo tuberculostáticos, particularmente, pirazinamida (PZN), rifampicina (RFN) e/ou isoniazida (ISN) e suas composições farmacêuticas para o tratamento da tuberculose e outras doenças pulmonares que possuam ação pulmonar ou sistêmica. As nanopartículas são compostas de polímeros biodegradáveis e podem estar sob a forma de aerossóis, inaladores e nebulizadores. O processo consiste em emulsificar a PZN e a ISN para formar uma emulsão a/o; dissolver as substâncias não emulsionáveis, polímero ou polímero/RFN em solventes orgânicos; misturar a emulsão a/o e a solução orgânica dos hidrofóbicos para formar a mistura pré-emulsionada; adicionar a mistura pré-emulsionada, com o auxílio de um sistema injetor, a uma solução aquosa de emulsificante sob ultradispersão para formar a emulsão final; levar a emulsão final a evaporação, centrifugar, congelar e liofilizar. O processo da invenção permite a obtenção de nanopartículas de tuberculostáticos com controle rigoroso do tamanho de partícula preservando as características ativas dos compostos encapsulados.