



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

(21) **PI0620427-9 A2**



* B R P I 0 6 2 0 4 2 7 A 2 *

(22) Data de Depósito: 22/12/2006
(43) Data da Publicação: 08/11/2011
(RPI 2131)

(51) *Int.Cl.:*
A61K 9/16

(54) **Título:** SISTEMAS MICROPARTICULADOS PARA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE SUBSTÂNCIAS BIOLÓGICAMENTE ATIVAS

(30) **Prioridade Unionista:** 22/12/2005 IT MI2005 A 002461

(73) **Titular(es):** Università Degli Studi Di Milano, Università Degli Studi Di Pavia, Università Degli Studi Di Salerno

(72) **Inventor(es):** Daniele Vigo, Eleonora Munari, Francesco de Simone, Maria Luisa Torre, Maria Rosaria Lauro, Massimo Faustini, Rita Patrizia Aquino, Sarah Scocca, Ubaldo Conte

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

(86) **Pedido Internacional:** PCT IT2006000874 de 22/12/2006

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/072535de
28/06/2007

(57) **Resumo:** SISTEMAS MICROPARTICULADOS PARA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE SUBSTÂNCIAS BIOLÓGICAMENTE ATIVAS. A presente invenção refere-se aos sistemas microparticulados gastrorresistentes e enterossolúveis para encapsular substâncias biologicamente ativas selecionadas de: flavonóides, vitaminas, antioxidantes, imunostimulantes, polissacarídeos engomados e não engomados, probióticos, prebióticos, reguladores do trânsito intestinal, oligoelementos, enzimas e peptídeos bioativos. Tais sistemas microparticulados permitem a administração das substâncias nutracêuticas mencionadas acima para animais tais como suínos, bovinos, caprinos, ovinos, eqüinos, canídeos, felinos, camelídeos, lagomorfos, roedores, aves selvagens e outros mamíferos inclusive seres humanos, peixes e crustáceos, aumentando a biodisponibilidade.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**SISTEMAS MICROPARTICULADOS PARA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE SUBSTÂNCIAS BIOLÓGICAMENTE ATIVAS**".

CAMPO DA INVENÇÃO

5 A presente invenção refere-se aos sistemas microparticulados para a administração oral de substâncias biologicamente ativas tais como nutracêuticos e os processos relevantes para a preparação dos mesmos.

TÉCNICA ANTERIOR

10 Um "alimento funcional" é definido como um gênero alimentício ou um constituinte do mesmo com efeitos positivos sobre uma ou mais funções corporais específicas, que vai além dos puros efeitos nutricionais, resultando na melhoria do estado de saúde ou bem-estar e/ou prevenção e tratamento de doenças. Um produto com uma estrutura química definida presente como um constituinte natural em um alimento funcional é definido
15 como um "nutracêutico".

Alimentos funcionais ou nutracêuticos, incluindo gêneros alimentícios como eles são ou enriquecidos, têm benefícios de saúde potenciais se forem tomados em doses eficazes e tornados biodisponíveis, resultando em suas atividades biológicas.

20 O uso de nutracêuticos e alimentos funcionais tem sido largamente difundido entre seres humanos, mas seu uso racional na indústria de gêneros alimentícios está disseminado nos campos zootécnico e veterinário em conseqüência da redução progressiva do uso de fármacos tradicionais.

Os nutracêuticos usados na indústria de alimentos para a fabricação de alimento para suínos, bovinos, caprinos, ovinos, eqüinos, canídeos, felinos, camelídeos, lagomorfos, roedores, aves e outros mamíferos, peixes e crustáceos são derivados de várias categorias, tais como flavonóides, vitaminas, antioxidantes, estimulantes do sistema imunológico, polissacarídeos ricos em amido e não-ricos em amido, probióticos, prebióticos, reguladores de trofismo intestinal, oligoelementos, enzimas e peptídeos bioativos.
30

Tais nutracêuticos são caracterizados pela considerável instabi-

lidade e são sensíveis aos fatores ambientais e ecológicos, tais como os processos digestivos gástricos, os quais resultam em perda significativa de atividade. No momento, tais nutracêuticos são suplementados aos alimentos para animais em doses adequadas, seguindo os processos tecnológicos convencionais, os quais não prevêm a proteção do nutracêuticos do ambiente externo.

De fato, uma das limitações no uso vitaminas e antioxidantes é sua estabilidade reduzida em ambientes ácidos, na presença de oxigênio ou outros agentes oxidantes. Esta instabilidade tem levado freqüentemente a resultados contraditórios com relação à sua eficácia eficaz, e a seu uso em doses extremamente altas.

O uso de vitaminas, tais como tocoferol, como substâncias nutracêuticas, foi recentemente indicado para melhorar a qualidade da carne, a estabilidades das fibrilas dos músculos, delicadeza aprimorada, palatabilidade, aroma e sabor: em bovinos, elas garantem altos níveis de oximioglobina, com uma coloração vermelho vibrante, aprimorada do alimento, mesmo durante armazenamento, particularmente apreciada pelo mercado; em suínos, elas reduzem peroxidação do lipídio e níveis de malonaldeído, um indicador de peroxidação de lipídio.

Dos dados na literatura, parece que o uso de vitaminas e substâncias nutracêuticas, se administradas corretamente, resulta em qualidade elevada da carne em coelhos, em frangos de corte e em peixe tal como carpa.

A administração de altas doses de tocoferol a várias espécies de bovinos melhora o desempenho reprodutivo pela regularização dos ciclos dos cios, e redução da incidência de retenção da placenta e mastite em bovinos que fornecem leite.

Outros nutracêuticos que podem ser usados em zootécnicas pertencem à classe dos flavonóides. Esta classe de moléculas é reconhecida por ter atividades gastroprotetoras, antibacterianas, antiinflamatórias e imunoestimulatórias, seguindo a indução da produção de interferons. Outros efeitos que podem estar relacionados aos flavonóides incluem antioxidades

e atividades de proteção à membrana de célula, efeitos broncodilatadores e opióides, com a modulação da atividade gastrointestinal e fluxo de eletrólito através da mucosa gastrointestinal (efeito antidiarréico). Um dos problemas associados ao uso de flavonóides é sua reduzida biodisponibilidade devido à absorção irregular seguindo administração oral.

Há numerosos e contínuos problemas não-resolvidos que incomodam a criação tanto de suínos quanto de bovinos, e em muitos casos soluções para superar as doenças que podem afetar o gado inteiro ou espécies individuais, com sérias perdas financeiras para o fazendeiro, ainda não foram encontradas.

Um dos principais problemas de saúde que atualmente afetam muitas fazendas inclui úlceras gastroesofageais em suínos durante crescimento e engorda. Na maioria dos animais afetados, a consequência desta doença é a morte do animal. Morte devido a úlceras também pode ser observada (mesmo se menos comum) durante desmame e entre porcas (sows). Na manutenção do gado, os animais afetados parecem pálidos e crescem muito lentamente. A maioria deles não morre e a úlcera tem uma tendência à cura durante o tempo, mas o crescimento é comprometido, com repercussão financeira negativa para o fazendeiro.

Outra doença significativa que afeta espécies suínas, como filhote de muitas outras espécies de animais, incluindo seres humanos, é a diarreia causada pelo rotavírus. Infecções por rotavírus em porquinhos têm um período de incubação de 2 a 4 dias, dependendo da virulência da cepa viral, a idade do porquinho, o estado imune da porca e as condições ambientais e da pecuária. Sob condições naturais, diarreia também pode se manifestar em animais recém-nascidos, mas é mais freqüente em animais com 2 a 6 semanas de idade, no final do aleitamento ou nos primeiros dias após a amamentação. Porquinhos afetados tornam-se anoréxicos e deprimidos poucas horas antes do início da diarreia. Freqüentemente há vômito, mas este não é um sintoma típico do rotavírus. Geralmente, adultos afetados não apresentam qualquer sintoma, embora diarreia seja freqüentemente observada em leitoas. A diarreia pode ser séria, e começa com fezes aquosas e

cremosas tornando-se rapidamente líquida e abundante e amarelada ou verde em cor. A diarreia pode durar por 10 dias. O retorno à normalidade é gradual e pode levar de 1 a 2 semanas. Desidratação é mais evidente em animais que mamam e naqueles animais afetados por longos períodos de tempo. Morbidez usualmente excede 80%, afetando a fazenda inteira em apenas alguns dias. Mortalidade pode alcançar 20% e é maior em animais que mamam.

O uso de nutracêuticos na alimentação de animais resulta em uso reduzido de antibióticos, fármacos antiinflamatórios, analgésicos e promotores de crescimento. O problema apresentado pela presente invenção é aquele de melhorar a biodisponibilidade dos nutracêuticos administrados aos animais. Como explicado acima, nutracêuticos são atualmente adicionados à forragem. Isso leva à exposição de tais substâncias a fatores ambientais, por exemplo, oxigênio atmosférico, e fatores biológicos, tais como os processos digestivos gástricos. Tais fatores levam à degradação total ou parcial dos nutracêuticos adicionados à forragem, e assim resultam na pobre biodisponibilidade de tais substâncias uma vez administradas aos animais. Este problema é resolvido pelo sistema microparticulado e um processo para a preparação do mesmo, como definido nas reivindicações anexas.

20 DESCRIÇÃO DETALHADA

Foi descoberto agora de modo inesperado, e forma o assunto da presente invenção industrial, que a administração oral de substâncias nutracêuticas adequadamente protegidas, como será definido em detalhes em diante, melhora a biodisponibilidade dos próprios nutracêuticos, impedindo a pêra ou redução drástica da atividade durante os processos de preparação da forragem, durante o armazenamento da mesma e durante digestão e absorção nos animais tratados.

Em particular, foi descoberto de forma inesperada que o uso de flavonóides adequadamente protegidos como nutracêuticos em espécies de suíno resulta em uma série de efeitos positivos que são explicados em uma variedade de formas. A administração de flavonóides microencapsulados, como eles são ou em forma de veículo a uma concentração adequada na

ferragem, tem um efeito protetor na mucosa gastrointestinal, prevenindo úlceras associadas com ação antibacteriana e inflamatória. Além disso, a estimulação do sistema imune seguindo liberação elevada de interferons é obtida, junto com um efeito antioxidante e protetor em direção das membranas celulares.

Além disso, em espécies de suínos afetadas pelas doenças pulmonares, caracterizadas pelo broncoespasmo agudo ou crônico, a administração de flavonóides adequadamente protegidos como nutracêuticos tem um efeito broncodilatador.

Outro efeito descoberto de forma inesperada do uso de flavonóides adequadamente protegidos como nutracêuticos em espécies de suíno é o efeito "opióide", caracterizado pela modulação da mobilidade gastrointestinal (trânsito lento) e a regulação do fluxo de eletrólito através da mucosa intestinal. Este mecanismo resulta em atividade antidiarréica marcada, como será especificado adicionalmente nos exemplos seguintes do presente pedido de patente.

Um dos problemas com a administração dos flavonóides refere-se à sua biodisponibilidade reduzida seguindo administração oral.

De fato, flavonóides podem existir como agliconas ou como glicosídeos (isto é, agliconas ligadas a um açúcar). Geralmente, agliconas são pobremente solúveis e assim têm taxas de dissolução muito baixas em fluidos biológicos. Uma taxa de dissolução baixa significa absorção irregular e pobre biodisponibilidade. O glicosídeo é mais solúvel que a aglicona, e então administração dos anteriores resulta em biodisponibilidade aumentada. De fato, a aglicona é apenas absorvida seguindo a hidrólise, que é geralmente lenta, da porção de açúcar do glicosídeo pelas glicosidases intestinais, para absorção na circulação periférica. A microencapsulação dos flavonóides de acordo com a presente invenção permite resolver o problema de sua pobre biodisponibilidade, conforme eles são distribuídos diretamente no intestino, onde eles são liberados e decompostos pelas glicosidases intestinais.

Outras substâncias nutracêuticas que podem ser encapsuladas dentro de sistemas microparticulados da presente invenção incluem: querce-

tina e rutina (quercetina conjugada a ramnose e glicose).

Tais substâncias são veicularizadas em sistemas microparticulados constituídos por polímeros derivados de celulose tais como acetofalato de celulose, trimelitato de celulose com solubilidade dependente do pH ou copolímeros metacrílicos ou etilacrilato conhecidos como Eudragit E, L, S, 5 RL, RS com solubilidade dependente do pH.

Em particular, acetofalato de celulose ou copolímeros de ácido acrílico e acrilato de etila, usados na preparação de microesferas e sistemas microparticulados ou granulados, descritos e reivindicados no presente pedido de patente, são insolúveis no ambiente gástrico ácido, mas muito solúvel 10 em ambientes neutro-alcalinos. Tais formulações dão proteção mais ou menos completa das substâncias ativas no ambiente gástrico, e liberação rápida e completa do fármaco, substância nutracêutica ou ativa, como verificado em testes *in vitro*, em ambientes entéricos simulados.

15 Agora foi descoberto de forma inesperada que a administração de flavonóides microescapsulados de acordo com o processo reivindicado, permite anulação do início das doenças e permite eficácia nutricional e produtiva melhorada com repercussões vantajosas óbvias para a saúde dos animais tratados, com vantagens financeiras indubitáveis para o fazendeiro.

20 Outro aspecto da invenção refere-se à suplementação simultânea da forragem do animal com microcápsulas contendo nutracêuticos, de acordo com a invenção, e antioxidantes não-encapsulados. Então, o propósito dos antioxidantes não-encapsulados é de proteger e assim permitir seu armazenamento a longo prazo, enquanto os antioxidantes encapsulados são 25 conduzidos diretamente dentro do intestino, e liberados aquela localização.

Os sistemas microparticulados da presente invenção são constituídos por um polímero de matriz gastrorresistente, biocompatível e biodegradável, compreendendo pelo menos um polímero gastrorresistente e enterossolúvel, pelo menos um sal de íon de metal monovalente, divalente ou 30 trivalente de um polímero biocompatível e biodegradável tendo grupos ácidos, pelo menos um polímero adicional biocompatível e biodegradável e substâncias biologicamente ativas.

Entender-se pelo termo substâncias biologicamente ativas nutraceuticos, isto é, flavonóides, vitaminas, antioxidantes, imunoestimulantes, polissacarídeos rico em amido e não rico em amido, probióticos, prebióticos, reguladores de trofismo intestinal, oligoelementos, enzimas e peptídeos bioativos.

Tais sistemas microparticulados são usados para a administração, preferencialmente oralmente, de substâncias biologicamente ativas a animais selecionados de: suínos, bovinos, caprinos, ovinos, eqüinos, canídeos, felinos, camelídeos, lagomorfos, roedores e outros mamíferos, incluindo seres humanos, aves, peixe e crustáceos. Animais preferidos são os filhotes de tais espécies.

A composição especial de tais sistemas microparticulados permite a proteção de tais substâncias biologicamente ativas da degradação pelas proteases e ácido gástrico, permitindo sua liberação no intestino, onde elas podem desempenhar suas atividades.

Preferencialmente, tal, pelo menos um, polímero gastrorresistente e enterossolúvel é selecionado de: ésteres de celulose de ácido ftálico (por exemplo, acetofalato de celulose, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose), ésteres de celulose de ácido trimelítico (por exemplo, trimelitato de celulose, trimelitato de hidroxipropilcelulose, trimelitato de hidroxipropilmetilcelulose); acrilatos e polimetacrilatos. Polimetacrilatos são os mais preferidos.

O dito pelo menos um sal de íon de metal monovalente, divalente ou trivalente de um polímero biocompatível e biodegradável tendo grupos ácidos é um sal de sódio, potássio, lítio, cálcio, bário, estrôncio, zinco, alumínio, ferro ou cromo de ácido algínico, ácido hialurônico ou goma xantana.

O dito pelo menos um polímero biocompatível e biodegradável é selecionado do grupo constituído por: glucanos, escleroglucanos, mananos, galactomananos, gelanos, carrageninas, pectinas, polianidridos, poliaminoácidos, poliaminas, xantanas, goma tragacanto, goma guar, goma xantana, celulosas e derivados das mesmas, carboximetilcelulose, etilcelulose, metilcelulose, hidroxipropilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, polivinilálcoois, polioxietilenos, carboxivinilpolímeros, amidos, colágenos,

quitinas, quitosanas, copolímeros bloqueadores de polioxietileno – copolímeros bloqueadores de polioxipropileno conhecidos como poloxâmeros.

Carboximetilcelulose, etilcelulose, metilcelulose, hidroxipropilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, polivinilálcoois, polioxietilenos, carboxivinilpolímeros, amidos, colágenos, quitinas, quitosanas, copolímeros bloqueadores de polioxietileno copolímeros bloqueadores de polioxipropileno conhecidos como poloxâmeros são preferidos.

Os sistemas microparticulados descritos acima e obtidos pelo processo descrito abaixo, têm um diâmetro compreendido entre 1 e 300 microns e preferencialmente entre 3 e 100 μm .

A presente invenção também refere-se a um processo para a preparação de tais sistemas microparticulados gastrorresistentes.

Tal processo compreende os seguintes estágios:

a) preparar uma solução, suspensão ou emulsão compreendendo pelo menos um polímero biocompatível e biodegradável e um tensoativo aniônico, catiônico, anfotérico ou não-iônico;

b) solubilizar ou dispersar pelo menos uma substância biologicamente ativa na solução, suspensão ou emulsão da etapa a) (mistura A);

c) preparar uma solução aquosa de pelo menos um sal de íon de metal monovalente de um polímero biocompatível e biodegradável (mistura B);

d) adicionar a solução B na mistura A;

e) preparar uma solução ou uma dispersão de pelo menos um polímero gastro-resistente e enterossolúvel (mistura C);

f) adicionar a mistura C na mistura B;

g) submeter à nebulização ou extrudar a solução ou suspensão da etapa f) em uma solução aquosa de um sal de íon solúvel divalente ou trivalente;

A presença de íons divalentes e trivalentes leva à formação de uma matriz insolúvel constituída pelo, por exemplo, sal de alginato de cálcio e/ou bário e/ou algum outro cátion divalente ou trivalente. Isso leva à formação de sistemas microparticulados contendo as substâncias biologicamente

ativas.

h) alternativamente, na etapa g), a mistura da etapa f) pode ser submetida à nebulização e secada usando um secador por atomização, como conhecido daqueles versados na técnica.

5 Mistura A obtida da etapa b) é preferencialmente uma emulsão ou uma suspensão que é obtida pela dissolução de uma quantidade igual ou diferente de um polímero biocompatível – biodegradável e um tensoativo aniônico, catiônico, anfotérico ou não-iônico em água destilada, preferencialmente à temperatura ambiente. As quantidades dos dois componentes
10 mencionados acima são, respectivamente, compreendidas dentre: 0,1% e 50% em p/v, preferencialmente entre 0,4% e 30% em p/v.

À solução assim preparada é adicionada uma substância ativa, enquanto agitando continuamente até ser obtida uma solução, suspensão ou emulsão estável (mistura A). a quantidade da substância ativa adicionada é
15 compreendida dentre 0,1% em p/v e 50% em p/v, preferencialmente entre 0,4% e 30% em p/v.

A mistura C é uma solução tampão a uma pH compreendido dentre 5 e 9, mas preferencialmente entre 7 e 8, compreende pelo menos um polímero gastrorresistente e enterossolúvel e uma quantidade dentre
20 10% e 50% em p/v, preferencialmente entre 5% e 25% em p/v.

Mistura B é adicionada à mistura A, em uma razão volumétrica preferida de 1:2, e a solução assim obtida é adicionada à mistura C em uma razão volumétrica de 3:1.

Na etapa g), nebulização ocorre com a ajuda de orifícios, bocais
25 ou seringas tendo tamanhos variando de 10 μm a 5000 μm , preferencialmente de 300 μm a 2000 μm . Extrusão ocorre com a ajuda de microencapsuladores automáticos ou semi-automáticos, bombas peristálticas ou de pistão ou alternativas, ou através de uma seringa, acionada manualmente e/ou automaticamente a uma velocidade para produzir de 10 a 250 gotas/minuto,
30 preferencialmente de 20 a 120 gotas/minuto.

Nebulização ou extrusão resulta na formação de gotas muito pequenas que são coletadas em uma solução aquosa de um sal de íon inor-

gânico solúvel divalente ou trivalente, mantidas em agitação a uma velocidade de entre 10 e 200 rpm, preferencialmente 20 e 100 rpm. A razão volumétrica entre a solução extrudada e a solução de sal inorgânico está entre 1:1 e 1:6, preferencialmente, a razão é 1:4.

5 Este sal inorgânico divalente ou trivalente é selecionado de: cloreto de cálcio, bário, estrônio, zinco, alumínio, ferro ou cromo, preferencialmente cloreto de cálcio, cloreto de bário ou cloreto de alumínio. Ainda mais preferencialmente, está o cloreto de cálcio. A concentração das ditas soluções de sal inorgânico está compreendida entre 0,1 M e 2,0 M, preferencialmente entre 0,2 M e 0,8 M.

10 A presença de um sal de metal divalente ou trivalente leva à formação de uma matriz constituída por sais insolúveis do polímero biodegradável e biocompatível, tendo grupos ácidos, com o metal divalente ou trivalente usado, e assim a obtenção de sistemas microparticulados de rápida sedimentação.

15 Tais sistemas microparticulados têm uma forma esférica e são insolúveis. Eles são separados da solução por aspiração ou filtração. Opcionalmente, eles podem ser lavados várias vezes com solução fisiológica (solução salina isotônica).

20 Em um aspecto preferido, os sistemas microparticulados assim obtidos podem ser submetidos a uma reticulação de superfície externa, por através de uma polimerização interfacial do polímero biodegradável e biocompatível de sal de íon de metal divalente ou trivalente, usando agentes de reticulação tipo poliamina, tais como, por exemplo: sulfato ou fosfato de protamina, bromidrato de poli-L-lisina (faixa de peso molecular de 1.000 Da a 80.000 Da), polivinilamina, quitosanas (faixa de peso molecular de 15.000 Da a 1.000.000 Da). Tais agentes de reticulação são preferencialmente usados como soluções aquosas em concentrações compreendidas de entre 0,01% e 5% em p/v.

30 A reação de reticulação é realizada a uma temperatura compreendida de entre 5 e 40 °C, preferencialmente cerca de 25 °C por períodos de tempo compreendidos entre 1 minuto e 120 minutos, preferencialmente entre

3 e 30 minutos.

A reação de reticulação leva ao endurecimento da membrana dos sistemas microparticulados, fazendo-os mais fáceis de manusear.

5 Em um aspecto preferido, tais sistemas microparticulados podem ser subseqüentemente submetidos à liofilização, usando técnicas conhecidas daqueles versados na técnica, ou secadas através de qualquer método conhecido na técnica que não seja prejudicial à atividade da substância encapsulada biologicamente ativa.

10 Alternativamente, o processo de produção para as micropartículas da invenção pode encarar a formação de um granulado esférico. Neste caso, espessantes, por exemplo, amido de milho, lactose, etc., e um polímero biocompatível e biodegradável, são adicionados à mistura dos componentes. A massa úmida assim obtida é extrudada através de um granulador adequado, como conhecido na técnica. Assim, grânulos esféricos, como
15 uma distribuição granulométrica compreendida entre 50 e 1000 microns, e preferencialmente entre 150 e 500 microns, são obtidos. Tal granulado é então revestido com um polímero gastro-resistente e enterossolúvel para dar as micropartículas da invenção.

20 Tais sistemas microparticulados podem ser armazenados a temperaturas compreendidas entre -20 °C e 40 °C, preferencialmente entre 4 °C e 40 °C, possivelmente em uma atmosfera controlada, como conhecido daqueles versados na técnica.

25 Os sistemas microparticulados, formando o assunto da presente invenção, podem ser administrados oralmente, pela administração com uma dieta líquida ou como suplementos em alimento sólido.

Em um aspecto adicional, a presente invenção se refere aos alimentos pré-embalados para animais, com os sistemas microparticulados da invenção adicionados, e alimentos assim suplementados ao qual antioxidantes não-encapsulados também são adicionados.

30 A invenção provê sistemas microparticulados tendo tais dimensões de modo a permitir dispersão máxima em alimentos sólidos e líquidos sem quaisquer problemas envolvendo as partículas agregando e, então, se-

parando dos sólidos ou precipitando os líquidos. Isso permite fácil administração aos animais.

Os sistemas microparticulados gastrorresistentes da invenção podem ser administrados oralmente e proporcionar, em ambientes gástricos ácidos, proteção eficaz das substâncias biologicamente ativas "vehicularised", e a rápida liberação das substâncias mencionadas acima, com alta atividade biológica, no ambiente entérico (intestino grosso ou fino).

Tais sistemas microparticulados gastro-resistentes têm potencial aplicação significativa no setor de gastroenterologia veterinária e nutrição, especialmente em espécies de animais monogástricos, mas também em não-ruminantes poligástricos e aqueles ruminantes com pré-estômagos não-funcionais.

Tais preparações podem ser classificadas entre os aditivos alimentares zootécnicos (como descrito no 1º anexo do Reg. CE Nº 1831/2003).

Na criação de gado, a invenção resolve o problema essencial da administração de substâncias nutracêuticas ativas em quantidades suficientes para permitir seus efeitos benéficos a se manifestar.

EXEMPLO 1:

PREPARAÇÃO DE SISTEMAS MICROPARTICULADOS CONTENDO α -TOCOFEROL A 6%.

Emulsão A:

Quantidades idênticas de Poloxâmero (0,4% em p/v BASF, Ludwigshafen, Alemanha) e lauril sulfato de sódio (0,4% em p/v Sigma-Aldrich, Milão, Itália) são dissolvidas em água destilada à temperatura ambiente. À solução resultante é adicionado, com agitação constante, alfa-tocoferol (1,6% em p/v, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) para dar uma emulsão estável e homogênea.

Solução B:

Uma solução aquosa a 2% de baixa viscosidade de alginato de sódio (250 cps, solução a 2%, 25 °C) (Sigma-Aldrich, Milão, Itália) é preparada à temperatura ambiente.

Solução C:

Uma solução a 20% em p/v de polimetacrilato (Eudragit S100®, Röhm Pharma, GmbH, Darmstadt, Alemanha) em tampão de fosfonato pH 7,5.

5 Solução C é adicionada à solução B, em uma razão volumétrica de 1:2, com agitação constante, e a dita solução é adicionada à emulsão A, em uma razão volumétrica de 3:1, novamente com agitação constante.

A porcentagem da composição da emulsão resultante é:

- Polimetacrilato a 5%
- Alginato de sódio a 1%
- 10 • Poloxâmero a 0,1%
- Lauril sulfato de sódio a 0,1%
- Alfa-tocoferol a 0,4%

15 Usando uma bomba peristáltica, a emulsão resultante é submetida à nebulização através de um secador por atomização (Büchi Mini Spray Dryer) ajustado com um bocal de 0,5 mm de diâmetro, com uma temperatura de entrada de ar de 120 °C, temperatura de saída de 100 °C, e uma pressão aplicada de 4 atm.

20 Sistemas microparticulados são obtidos, os quais são então adequadamente colhidos, como conhecido daqueles versados na técnica. Tais sistemas microparticulados aparecem como pó fino, insolúvel em água, com uma distribuição granulométrica compreendida entre 5 e 35 microns e com boas propriedades de umidade, fluxo e fluidez.

25 Determinação da quantidade de alfa-tocoferol contida foi desempenhada espectrofotometricamente a 291 nm, seguindo dissolução dos sistemas microparticulados em etanol absoluto. A titulação é 101+/- 3% com relação ao valor teórico.

30 Os sistemas microparticulados são subseqüentemente submetidos ao ensaio como prescrito na Farmacopéia (FUI XI) para formas farmacêuticas gastrorresistentes, de modo a avaliar a estabilidade *in vitro* da vitamina em ambientes ácidos, e liberação em ambientes entéricos simulados.

EXEMPLO 2:

PREPARAÇÃO DE SISTEMAS MICROPARTICULADOS CONTENDO α -

TOCOFEROL A 22%.

Emulsão A:

5 Poloxâmoro 407 (2% em p/v, BASF, Ludwigshafen, Alemanha) e lauril sulfato de sódio (2% em p/v, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) são dissolvidos em água destilada à temperatura ambiente com agitação magnética constante a 100 rpm. Alfa-tocoferol (8% em p/v, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) é adicionado à solução com agitação de turbina (Ultra Turrax) por 15 minutos: uma emulsão estável é obtida.

Solução B:

10 Uma solução aquosa de baixa viscosidade de alginato de sódio (250 cps, solução a 2%, 25 °C) (ácido algínico, sal de sódio, baixa viscosidade, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) a uma concentração de 2% em p/v, é preparada com agitação magnética constante a 100 rpm à temperatura ambiente.

Solução C:

15 Uma solução de polimetacrilato a 20% em p/v (Eudragit S100[®], Röhm Pharma, Darmstadt, Alemanha) em tampão de fosfato a pH 7,5 é preparado por agitação à temperatura ambiente.

20 Solução C é adicionada à solução B, em uma razão volumétrica de 1:2, com agitação magnética constante, e a dita solução é adicionada à emulsão A, em uma razão volumétrica de 3:1, com agitação de turbina constante por 15 minutos. Usando uma bomba peristáltica, a emulsão resultante é submetida à nebulização por meio de um secador por atomização (Büchi Mini Spray Dryer) ajustada com um bocal de 0,5 mm de diâmetro, com uma
25 temperatura de entrada de ar de 120 °C, temperatura de saída de 100 °C, e uma pressão aplicada de 4 atm.

São obtidos sistemas microparticulados que, em seguida, são apropriadamente colhidos, como conhecidos por aqueles versados na técnica.

30 Os produtos parecem como pós finos com boas propriedades de fluxo e fluidez.

A composição do produto, calculada da composição da solução

submetida à nebulização, é como segue:

- Polimetacrilato a 55,56%
- Alginato de sódio a 11,11%
- Poloxâmero a 5,56%
- 5 • Lauril sulfato de sódio a 5,56%
- Alfa-tocoferol a 22,22%

Os sistemas microparticulados, os quais são insolúveis em água, são caracterizados por distribuição granulométrica normal e diâmetro médio de 19+/-12,8 microns, como determinado através de difusão a laser (Coulter
10 LS230, Beckman-Coulter, Fullerton, CA, USA).

O pó tem boas propriedades de umidade e fluxo livre e é então particularmente adequado para ser adicionado a alimentos líquidos e sólidos, para obter misturas ou suspensões homogêneas.

Seguindo a preparação dos sistemas microparticulados, determinação da quantidade de alfa-tocoferol contida nos sistemas microparticulados foi determinada espectrofotometricamente a um comprimento de onda de 291 nm seguindo dissolução dos sistemas microparticulado em etanol absoluto. A titulação é igual a 102,0+/-1,84% (n=4).
15

Os sistemas microparticulados foram submetidos ao ensaio como prescrito na Farmacopéia (FUI XI) para formas farmacêuticas gastrorresistentes, como relatado em detalhes acima, de modo a avaliar a estabilidade *in vitro* da vitamina em ambientes ácidos, e liberação em ambientes entéricos simulados.
20

EXEMPLO 3:

25 PREPARAÇÃO DE SISTEMAS MICROPARTICULADOS CONTENDO RUTINA A 6%.

Suspensão A:

Poloxâmero 407 (0,4% em p/v, BASF, Ludwigshafen, Alemanha) e lauril sulfato de sódio (0,4% em p/v, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) são dissolvidos em água destilada à temperatura ambiente com agitação magnética constante a 100 rpm. Rutina (1,6% em p/v, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) é
30 adicionada à solução com agitação de turbina (Ultra Turrax) por 15 minutos:

uma suspensão estável é obtida.

Solução B:

5 Uma solução aquosa de baixa viscosidade de alginato de sódio (250 csp, solução a 2%, 25 °C) (ácido algínico, sal de sódio, baixa viscosidade, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) a uma concentração de 2% em p/v, é preparada com agitação magnética constante a 100 rpm à temperatura ambiente.

Solução C:

10 Uma solução de polimetacrilato a 20% em p/v (Eudragit S100®, Röhm Pharma, Darmstadt, Alemanha) em tampão de fosfato a pH 7,5 é preparada por agitação à temperatura ambiente.

15 Solução C é adicionada à solução B, em uma razão volumétrica de 1:2, com agitação magnética constante; a dita solução é adicionada à suspensão A, em uma razão volumétrica de 3:1, com agitação de turbina constante (Ultra Turrax) por 15 minutos. Usando uma bomba peristáltica, a emulsão resultante é submetida à nebulização por meio de um secador por atomização (Büchi Mini Spray Dryer) ajustada com um bocal de 0,5 mm de diâmetro, com uma temperatura de entrada de ar de 120 °C, temperatura de saída de 100 °C, e uma pressão aplicada de 4 atm.

20 Sistemas microparticulados são obtidos, os quais são então adequadamente colhidos, como conhecidos daqueles versados na técnica.

Os produtos parecem como pós finos com boas propriedades de fluxo e fluidez.

25 A composição do produto, calculada da composição da solução submetida à nebulização, é como segue:

- Polimetacrilato a 75,76%
- Alginato de sódio a 15,15%
- Poloxâmero a 1,52%
- Lauril sulfato de sódio a 1,52%
- 30 • Rutina a 6,06%

Os sistemas microparticulados, os quais são insolúveis em água, são caracterizados por distribuição granulométrica normal e diâmetro médio

de 21,9+/-13,7 microns, como determinado através de difusão a laser (Coulter LS230, Beckman-Coulter Inc., Fullerton, CA, USA).

5 O pó tem boas propriedades de umidade e fluxo livre, e é então particularmente adequado para ser adicionado aos alimentos sólidos e líquidos, para obter misturas ou suspensões homogêneas.

Seguindo a preparação dos sistemas microparticulados, determinação da quantidade de rutina contida em sistemas microparticulados foi determinada espectrofotometricamente em um comprimento de onda de 367 nm seguido dissolução dos sistemas microparticulados em tampão de fosfato a pH 7,5. A titulação é igual a 108,0+/-1,84% (n=4) com relação ao valor teórico.

15 Os sistemas microparticulados foram subseqüentemente submetidos ao ensaio como prescrito na Farmacopéia (FUI XI) para formas farmacêuticas gastro-resistentes, relatadas em detalhes acima, de modo a avaliar a estabilidade *in vitro* da rutina.

Em particular, em ambientes ácidos simulados, pH 1,0, menos de 20% da substância ativa são liberados após 120 minutos, e com permuta subseqüente a pH 7,5, a liberação completa da substância ativa vericulizadas nos sistemas microparticulados é obtida dentro de 15 minutos.

20 EXEMPLO 4:

PREPARAÇÃO DOS SISTEMAS MICROPARTICULADOS CONTENDO RUTINA A 11%.

Suspensão A:

25 O poloxâmero 407 (0,8% de p/v, BASF, Ludwigshafen, Alemanha) e o lauril sulfato de sódio (0,8% de p/v, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) são dissolvidos em água destilada a temperatura ambiente com agitação magnética constante a 100 rpm. Adiciona-se rutina (3,2% de p/v, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) à solução com agitação através de turbinas (Ultra Turrax) durante 15 minutos: uma emulsão estável é obtida.

30 Solução B:

Uma solução aquosa de alginato de sódio de baixa viscosidade (250 cps, solução a 2%, 25°C) (ácido algínico, sal de sódio, baixa viscosida-

de, Sigma-Aldrich, Milão, Itália), em uma concentração de 2% de p/v, é preparada com agitação magnética constante a 100 rpm à temperatura ambiente.

Solução C:

5 Uma solução a 20% p/v de polimetacrilato (Eudragit S100[®], Rohm Pharma, Darmstadt, Alemanha) em tampão de fosfato com pH de 7,5 é preparada através de agitação a temperatura ambiente.

A solução C é adicionada à solução B, em uma relação volumétrica de 1:2, com agitação magnética constante; a dita solução é adicionada
10 à emulsão A, em uma relação volumétrica de 3:1, com agitação constante através de turbinas durante 15 minutos.

Utilizando uma bomba peristáltica, a suspensão resultante é nebulizada por meio de um secador por aspersão (Büchi Mini Spray Dryer) equipado com um bico de 0,5 mm de diâmetro, com uma temperatura de entrada de ar de 120^oC, temperatura de saída de 100^oC, e uma pressão de 4
15 atm.

São obtidos sistemas microparticulados que, em seguida, são apropriadamente colhidos, como é sabido por aqueles verados na técnica.

Os produtos aparecem na forma de pós finos com boas propriedades de fluxo e fluidez.
20

A composição do produto, calculada a partir da composição da solução nebulizada, é a seguinte:

69,44% de Polimetacrilato
13,89% de Alginato de sódio
25 2,78% de Poloxâmero
2,78% de Lauril sulfato de sódio
11,11% de rutina

Os sistemas microparticulados, que são insolúveis em água, caracterizam-se por uma distribuição granulométrica normal e por um diâmetro
30 de $23,8 \pm 14,3$ microns, conforme determinado por meio de dispersão a laser (Coulter LS230, Beckman-Coulter Inc., Fullerton, CA, USA).

O pó tem boas propriedades de fluxo livre e de umidificação e,

por conseguinte, é particularmente apropriado para ser adicionado a alimentos sólidos e líquidos, a fim de obter misturas homogêneas ou suspensões.

Após a preparação dos sistemas microparticulados, a determinação da quantidade de rutina contida nos sistemas microparticulados foi estabelecida espectrofotometricamente em um comprimento de onda de 367 nm após dissolução dos sistemas microparticulados em tampão de fosfato com pH de 7,5. O título é igual a $91,43 \pm 10\%$ ($n = 4$) em relação ao valor teórico.

Os sistemas microparticulados foram submetidos a ensaio, conforme prescrito na Farmacopéia (FUI XI) para formas farmacêuticas gastrorresistentes, conforme relatado de modo detalhado acima, de modo a avaliar a estabilidade in vitro da rutina em ambientes ácidos, e a liberação em ambientes entéricos simulados.

Em particular, em ambientes ácidos simulados, com pH 1,0, menos de 15% da substância ativa são liberados depois de 120 minutos, e, com mudança subsequente para um pH de 7,5, a liberação completa da substância ativa veiculada nos sistemas microparticulados é obtida dentro de 15 minutos.

EXEMPLO 5:

20 PREPARAÇÃO DOS SISTEMAS MICROPARTICULADOS CONTENDO 22% DE RUTINA.

Suspensão A

O poloxâmero 407 (2% de p/v, BASF, Ludwigshafen, Alemanha) e o lauril sulfato de sódio (2% de p/v, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) são dissolvidos em água destilada à temperatura ambiente com agitação magnética constante a 100 rpm. Adiciona-se rutina (8% de p/v, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) à solução com agitação através de turbinas (Ultra Turrax) durante 15 minutos: uma suspensão estável é obtida.

Solução B:

30 Uma solução aquosa de baixa viscosidade de alginato de sódio (250 cps, solução a 2%, 25°C) (ácido algínico, sal de sódio, baixa viscosidade, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) em uma concentração de 2% de p/v é prepa-

rada com agitação magnética constante at 100 rpm a temperatura ambiente.

Solução C:

Uma solução de polimetacrilato a 20% p/v (Eudragit S100®, Rohm Pharma, GmbH, Darmstadt, D) em tampão de fosfato com pH de 7,5 é preparada através de agitação a temperatura ambiente.

A solução C é adicionada à solução B, em uma relação volumétrica de 1:2, com agitação magnética constante; a dita solução é adicionada à emulsão A, em uma relação volumétrica de 3:1, com agitação constante através de turbinas for durante 15 minutos.

Utilizando uma bomba peristáltica, a suspensão resultante é nebulizada por meio de um secador por aspersão (Büchi Mini Spray Dryer) equipado com um bico de 0,5 mm de diâmetro, com uma temperatura de entrada de ar de 120°C, temperatura de saída de 100°C, e uma pressão aplicada de 4 atm.

São obtidos sistemas microparticulados que, em seguida, são apropriadamente colhidos, como conhecido por aqueles especializados na técnica.

O produto aparece na forma de um pó fino, com boas propriedades de fluxo e fluidez.

A composição do produto, calculada a partir da composição da solução nebulizada, é a seguinte:

55,56% de Polimetacrilato

11,11% de Alginato de sódio

5,56% de Poloxâmero

5,56% de Lauril sulfato de sódio

22,22% de rutina

O sistema microparticulado obtido é insolúvel em água e caracteriza-se por uma distribuição granulométrica normal e por um diâmetro médio de $21,2 \pm 12,7$ microns, conforme determinado por meio de dispersão a laser (Coulter LS230, Beckman-Coulter, Fullerton, CA, USA).

O pó tem boas propriedades de fluxo livre e de umidificação e, por conseguinte, é particularmente apropriado para ser adicionado a alimen-

tos sólidos e líquidos, a fim de obter misturas homogêneas ou suspensões.

Após preparação dos sistemas microparticulados, a determinação da quantidade de rutina contida dentro dos sistemas microparticulados foi efetuada por espectrofotometria em um comprimento de onda de 367 nm após dissolução dos sistemas microparticulados em etanol absoluto. O título foi igual a $102,4 \pm 2,6\%$ ($n = 4$).

Os sistemas microparticulados obtidos foram subseqüentemente submetidos a ensaio conforme prescrito na Farmacopéia (FUI XI) para formas farmacêuticas gastrorresistentes, conforme relatado acima detalhadamente, de modo a avaliar a estabilidade in vitro da rutina em um ambiente ácido, e a liberação da mesma em um ambiente entérico simulado.

Em particular, em um ambiente ácido simulado, com pH de 1,0, menos de 10% da substância ativa são liberados dentro de 120 minutos, e com a mudança subseqüente para um pH de 7,5, a liberação completa da substância ativa veiculada dentro dos sistemas microparticulados é obtida em 15 minutos.

EXEMPLO 6:

PREPARAÇÃO DE SISTEMAS MICROPARTICULADOS CONTENDO 6% de QUERCETINA.

20 Suspensão A

O poloxâmoro 407 (0,4% de p/v, BASF, Ludwigshafen, Alemanha) e o lauril sulfato de sódio (0,4% de p/v, Sigma- Aldrich, Milão, Itália) são dissolvidos em água destilada à temperatura ambiente com agitação magnética constante a 100 rpm. A quercetina (1,6% de p/v, Sigma- Aldrich, Milão, Itália) foi adicionada à solução com agitação através de turbinas (Ultra Tur-rax) durante 15 minutos: uma suspensão estável é obtida.

Solução B:

Uma solução aquosa de alginato de sódio de baixa viscosidade (250 cps, solução a 2%, 25°C) (ácido algínico, sal de sódio, baixa viscosidade, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) em uma concentração de 2% p/v é preparada com agitação magnética a 100 rpm à temperatura ambiente.

Solução C

Uma solução de polimetacrilato a 20% p/v (Eudragit S100[®], Rohm Pharma, Darmstadt, Alemanha) em tampão de fosfato com pH de 7,5 é preparada à temperatura ambiente com agitação constante.

5 A solução C é adicionada à solução B em uma relação volumétrica de 1:2 e mantida em agitação utilizando um agitador magnético; a dita solução é então adicionada à suspensão A em uma relação volumétrica de 3:1 com agitação constante através de turbinas (Ultra Turrax) durante 15 minutos.

10 Utilizando uma bomba peristáltica, a solução resultante é nebulizada utilizando um secador por aspersão (Büchi Mini Spray Dryer) equipado com um bico de 0,5 mm de diâmetro, com uma temperatura de entrada de ar de 120°C, temperatura de saída de 100°C, com uma pressão aplicada de 4 atm.

15 São obtidos sistemas microparticulados que são apropriadamente colhidos como é sabido por aqueles especializados na técnica.

Os produtos aparecem na forma de um pó fino, com boas propriedades de fluxo e fluidez.

A composição do produto, calculada a partir da composição da solução nebulizada, é a seguinte:

20 75,76% de Polimetacrilato
15,15% de Alginato de sódio
1,52% de Poloxâmero
1,52% de Lauril sulfato de sódio
6,06% de Quercetina

25 Os sistemas microparticulados, que são insolúveis em água, caracterizam-se por uma distribuição granulométrica normal e por um diâmetro médio de $21,3 \pm 12,9$ microns, conforme determinado por meio de dispersão a laser (Coulter LS230, Beckman-Coulter, Fullerton, CA, USA).

30 O pó tem boas propriedades de fluxo livre e de umidificação e, por conseguinte, é particularmente apropriado para ser adicionado a alimentos sólidos e líquidos, a fim de obter misturas homogêneas ou suspensões.

Após preparação dos sistemas microparticulados, a determina-

ção da quantidade de quercetina contida dentro dos sistemas microparticulados foi efetuada por espectrofotometria em um comprimento de onda de 366 nm após a dissolução dos sistemas microparticulados em tampão de fosfato com pH de 7,5. O título foi igual a $97,5 \pm 11,5\%$ ($n = 4$) em relação ao valor teórico.

Os sistemas microparticulados foram subsequentemente submetidos a ensaio conforme prescrito na Farmacopéia (FUI XI) para formas farmacêuticas gastrorresistentes, conforme relatado acima de modo detalhado, de modo a avaliar a estabilidade in vitro da quercetina em um ambiente ácido, e a liberação da mesma em um ambiente entérico simulado.

Em particular, em um ambiente ácido simulado, com pH de 1,0, menos de 15% da quercetina são liberados dentro de 120 minutos, e com uma mudança subsequente para um pH 7,5, a liberação de não mais de 50% da substância ativa veiculada dentro dos sistemas microparticulados é obtida em 15-30 minutos.

EXEMPLO 7:

PREPARAÇÃO DE SISTEMAS MICROPARTICULADOS CONTENDO 11% DE QUERCETINA.

Suspensão A:

O poloxâmero 407 (0,8% de p/v, BASF, Ludwigshafen, Alemanha) e o lauril sulfato de sódio (0,8% de p/v, Sigma- Aldrich, Milão, Itália) são dissolvidos em água destilada a temperatura ambiente com agitação magnética constante a 100 rpm. A quercetina (3,2% de p/v, Sigma- Aldrich, Milão, Itália) foi adicionada à solução com agitação através de turbinas (Ultra Tur-rax) durante 15 minutos: uma suspensão estável é obtida.

Solução B:

Uma solução aquosa de alginato de sódio de baixa viscosidade (250 cps, solução a 2%, 25°C) (ácido algínico, sal de sódio, baixa viscosidade, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) em uma concentração de 2% p/v é preparada com agitação magnética a 100 rpm à temperatura ambiente.

Solução C:

Uma solução de polimetacrilato a 20% p/v (Eudragit S100®),

Rohm Pharma GmbH, Darmstadt, Alemanha) em tampão de fosfato com pH de 7,5 é preparada à temperatura ambiente com agitação constante.

A solução C é adicionada à solução B em uma relação volumétrica de 1:2 e mantida em agitação utilizando um agitador magnético; a dita
5 solução é então adicionada à emulsão A em uma relação volumétrica de 3:1 com agitação constante através de turbinas (Ultra Turrax) durante 15 minutos.

Utilizando uma bomba peristáltica, a solução resultante é nebulizada utilizando um secador por aspersão (Büchi Mini Spray Dryer) equipado
10 com um bico de 0,5 mm de diâmetro, em uma temperatura de entrada de ar de 120°C, temperatura de saída de 100°C, com uma pressão aplicada de 4 atm.

São obtidos sistemas microparticulados que são apropriadamente colhidos, como conhecido por aqueles especializados na técnica.

15 O produto aparece na forma de um pó fino, com boas propriedades de fluxo e fluidez.

A composição do produto, calculada a partir da composição da solução nebulizada, é a seguinte:

20 69,44% de Polimetacrilato
13,89% de Alginato de sódio
2,78% de Poloxâmero
2,78% de Lauril sulfato de sódio
11,11% de Quercetina

25 O sistema microparticulado obtido é insolúvel em água e caracteriza-se por uma distribuição granulométrica normal e por um diâmetro médio de 27,1 + 6,0 microns, conforme determinado por meio de dispersão a laser (Coulter LS230, Beckman-Coulter Inc., Fullerton, CA, USA).

O pó tem boas propriedades de fluxo livre e de umidificação e, por conseguinte, é particularmente apropriado para ser adicionado a alimentos sólidos e líquidos, a fim de obter misturas homogêneas ou suspensões.
30

Após preparação, a determinação da quantidade de quercetina contida dentro dos sistemas microparticulados foi efetuada por espectrofo-

tometria em um comprimento de onda de 366 nm após dissolução prévia em tampão de fosfato com pH de 7,5. O título foi igual a 100,7 + 15,8% (n = 4) em relação ao valor teórico.

5 Os sistemas microparticulados foram subseqüentemente submetidos a ensaio conforme prescrito na Farmacopéia (FUI XI) para formas farmacêuticas gastrorresistentes, conforme relatado acima de modo detalhado, de modo a avaliar a estabilidade in vitro da quercetina em um ambiente ácido, e a liberação da mesma em um ambiente entérico simulado.

10 Em particular, em um ambiente ácido simulado, com pH 1,0, menos de 5% da quercetina são liberados dentro de 120 minutos, e com uma mudança subseqüente para um pH de 7,5, a liberação de não mais de 60% da substância ativa veiculada dentro dos sistemas microparticulados é obtida em 15-30 minutos.

EXEMPLO 8:

15 PREPARAÇÃO DE SISTEMAS MICROPARTICULADOS CONTENDO 22% DE QUERCETINA.

Suspensão A:

20 O poloxâmoro 407 (2% de p/v, BASF, Ludwigshafen, Alemanha) e o lauril sulfato de sódio (2% de p/v, Sigma- Aldrich, Milão, Itália) são dissolvidos em água destilada a temperatura ambiente com agitação magnética constante a 100 rpm. A quercetina (8% de p/v, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) foi adicionada à solução com agitação através de turbinas (Ultra Turrax) durante 15 minutos: uma suspensão estável é obtida.

Solução B:

25 Uma solução aquosa de alginato de sódio de baixa viscosidade (250 cps, solução a 2%, 25°C) (ácido algínico, sal de sódio, baixa viscosidade, Sigma-Aldrich, Milão, Itália) em uma concentração de 2% p/v é preparada com agitação magnética a 100 rpm à temperatura ambiente.

Solução C:

30 Uma solução de polimetacrilato a 20% de p/v (Eudragit S100®, Rohm Pharma GmbH, Darmstadt, Alemanha) em tampão de fosfato com pH de 7,5 é preparada à temperatura ambiente com agitação constante.

A solução C é adicionada à solução B em uma relação volumétrica de 1:2 e mantida em agitação utilizando um agitador magnético, e a dita solução é, em seguida, adicionada à emulsão A em uma relação volumétrica de 3:1 com agitação constante através de turbinas (Ultra Turrax) durante 15 minutos.

Utilizando uma bomba peristáltica, a solução resultante é nebulizada utilizando um secador por aspersão (Büchi Mini Spray Dryer) equipado com um bico de 0,5 mm de diâmetro, em uma temperatura de entrada de ar de 120°C, temperatura de saída de 100°C, com uma pressão aplicada de 4 atm.

São obtidos sistemas microparticulados que, são apropriadamente colhidos, como conhecido por aqueles especializados na técnica.

O produto aparece na forma de um pó fino, com boas propriedades de fluxo e fluidez.

A composição do produto, calculada a partir da composição da solução nebulizada, é a seguinte :

55,56% de Polimetacrilato

11,11% de Alginato de sódio

5,56% de Poloxâmero

5,56% de Lauril sulfato de sódio

22,22% de Quercetina

O sistema microparticulado obtido é insolúvel em água e caracteriza-se por uma distribuição granulométrica normal e por um diâmetro médio de 27,3 microns, conforme determinado por meio de dispersão a laser (Coulter LS230, Beckman-Coulter Inc., Fullerton, CA₇ USA).

O pó tem boas propriedades de fluxo livre e de umidificação e, por conseguinte, é particularmente apropriado para ser adicionado a alimentos sólidos e líquidos, a fim de obter misturas homogêneas ou suspensões.

Após preparação dos sistemas microparticulados, a determinação da quantidade de quercetina contida dentro dos sistemas microparticulados foi efetuada por espectrofotometria em um comprimento de onda de 367 nm após dissolução prévia dos sistemas microparticulados em etanol

absoluto. O título foi igual a 98,7% (n = 4).

Os sistemas microparticulados foram subseqüentemente submetidos a ensaio conforme prescrito na Farmacopéia (FUI XI) para formas farmacêuticas gastrorresistentes, conforme relatado acima de modo detalhado, de modo a avaliar a estabilidade in vitro da quercetina em um ambiente ácido, e a liberação da mesma em um ambiente entérico simulado.

Em particular, em um ambiente ácido simulado, com pH de 1,0, menos de 10% da quercetina são liberados dentro de 120 minutos, e com uma mudança subseqüente para um pH de 7,5, a liberação de não mais do que 50% da substância ativa veiculada dentro dos sistemas microparticulados é obtida em 15-30 minutos.

EXEMPLO 9

PREPARAÇÃO DE UM GRANULADO CONTENDO RUTINA

Granulado gastrorresistente

Quantidades apropriadas de poloxâmero 407 (BASF, Ludwigshafen, Alemanha) e de lauril sulfato de sódio (Sigma-Aldrich, Milão, Itália) são misturadas em um misturador apropriado de pó, juntamente com rutina (Sigma-Aldrich, Milão, Itália) e são adicionados amido de milho, lactose e outros constituintes, tais como aqueles conhecidos por aqueles especializados na técnica, para produzir uma mistura homogênea. A dita mistura é embebida utilizando uma solução de ligação consistindo em 10% de uma solução aquosa de Polivinilpirrolidona (Kollidon 19-32 BASF). A massa úmida é extrudada através de um esferonizador de granulado apropriado para produzir um granulado esferoidal com uma distribuição granulométrica compreendida entre 50 e 1000 microns e, de preferência, entre 150 e 500 microns.

O dito granulado esferonizado é revestido, em uma bandeja de revestimento ou em um leito fluidizado através de aspensão de uma solução de acetofalato de celulose (Sigma) ou de polimetacrilato (Eudragit S100[®], Röhm Pharma GmbH, Darmstadt, Alemanha) em tampão de fosfato com pH de 7,5, suplementado com plastificantes de filmes, tais como aqueles conhecidos por aqueles especializados na técnica.

A operação prossegue até que o revestimento das partículas

esferoidais seja completo e uniforme.

O granulado revestido foi subsequente­mente submetido a ensaio conforme prescrito na Farmacopéia (FUI XI) para formas farmacêuticas gas­trorresistentes, conforme relatado acima de modo detalhado, a fim de avaliar a estabilidade in vitro da rutina em um ambiente ácido, e a liberação da mesma em um ambiente entérico simulado.

REIVINDICAÇÕES

1. Sistemas microparticulados consistindo em uma matriz de polímero gastrorresistente, biocompatível e biodegradável contendo substâncias biologicamente ativas em que a dita matriz compreende:

5 • Pelo menos um polímero gastrorresistente e enterosolúvel selecionado de: ésteres de celulose de ácido ftálico, ésteres de celulose de ácido trimelítico, acrilatos e polimetacrilatos ;

 • Pelo menos um tensoativo aniônico, catiônico, anfotérico ou não- iônico;

10 • Pelo menos um sal de íon de metal monovalente, divalente ou trivalente de um polímero biocompatível e biodegradável tendo grupos ácidos, selecionados de: sais de ácido algínico, de ácido hialurônico e goma de xantano;

 • Pelo menos um polímero adicional biocompatível e biodegradável selecionado de: glucanos, escleroglucanos, manás, galactomananas, gelans, carragenanos, pectinas, polianidridos, poliaminoácidos, poliaminas, xantanos, goma de tragacanto, goma de guar, goma de xantano, celuloses e derivados das mesmas, polivinilalcoóis, polioxietilenos, carboxivinilpolímeros, amidos, colágenos, quitinas, quitosanos, copolímeros de bloco de polioxietileno- polioxipropileno conhecidos como poloxâmeros, caracterizados pelo fato de que as ditas substâncias biologicamente ativas são selecionadas de: flavonóides, vitaminas, antioxidantes, imunoestimulantes, polissacarídeos engomados e não engomados, probióticos, prebióticos, reguladores do trofismo intestinal, oligoelementos, enzimas e peptídeos bioativos.

25 2. Sistemas microparticulados de acordo com a reivindicação 1, em que o dito pelo menos um polímero gastrorresistente e enterosolúvel é um polimetacrilato.

 3. Sistema microparticulados de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o dito sal de íon de metal monovalente, divalente ou trivalente de um polímero biocompatível e biodegradável tendo grupos ácidos é um sal de sódio, potássio, lítio, cálcio, bário, estrônio, zinco, alumínio, ferro ou cromo de ácido algínico, ácido hialurônico ou goma de xantano.

30

4. Sistemas microparticulados de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, em que o dito polímero adicional biocompatível e biodegradável é um copolímero de bloco de polioxietileno-polioxipropileno conhecidos como poloxâmeros;

5 5. Sistemas microparticulados de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, tendo um diâmetro compreendido entre 1 e 300 e preferivelmente entre 3 e 100 microns.

6. Uso de sistemas microparticulados de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, para a preparação de uma formulação farmacêutica gastrorresistente para a administração de substâncias biologicamente ativas para animais.

7. Uso de acordo com a reivindicação 6, em que os ditos animais incluem: suínos, bovinos, caprinos, ovinos, equinos, caninos, felinos, dromedários, lagomorfos, roedores e outros mamíferos incluindo seres humanos, aves selvagens e peixe, preferivelmente os jovens das ditas espécies.

8. Uso de acordo com a reivindicação 6 ou 7, em que a dita administração é administração oral.

9. Uso de acordo com a reivindicação 8, em que, no caso de administração oral, os ditos sistemas microparticulados são combinados com uma dieta de líquidos ou sólidos, ou usados com suplementos para a alimentação do animal.

10. Uso dos sistemas microparticulados como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 5 para a preparação de um medicamento para administração para animais de acordo com a reivindicação 7, para a prevenção de úlceras; estimulação do sistema imune seguida de liberação aumentada de interferonas; tornar mais lento o trânsito e a motilidade gastrointestinal (o efeito opióide) com um efeito regulador sobre o fluxo de eletrólitos por toda a mucosa intestinal e conseqüente atividade antidiarréica; conteúdo de malonaldeído de peroxidação de lipídeo reduzido; desempenho reprodutor melhorado e regularizando os ciclos de estrose; incidência reduzida de retenção placentar; incidência reduzida de mastite; eficiência respiratória melhorada.

11. Uso de acordo com a reivindicação 10, para a preparação de um nutracêutico ou um medicamento que tem ação antibacteriana, antiinflamatória, antioxidante e protetora da membrana da célula, para o tratamento de distúrbios pulmonares caracterizados por broncoespasmo agudo ou crônico.

12. Uso de acordo com a reivindicação 10 ou 11, para melhorar a qualidade de características organoléticas da carne, mesmo durante o armazenamento.

13. Alimentações animais suplementadas com os sistemas microparticulados como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 5.

14. Alimentação de animais suplementada com os sistemas microparticulados como definidos em qualquer uma das reivindicações 1 a 5, e antioxidantes não encapsulados.

15. Processo de produção para os sistemas microparticulados compreendendo as etapas a seguir:

a) Preparar uma solução, suspensão ou emulsão compreendendo pelo menos um polímero biocompatível e biodegradável e um tensoativo aniônico, catiônico, anfotérico ou não-iônico;

b) Solubilizar ou dispersar pelo menos uma substância biologicamente ativa na solução, suspensão ou emulsão da etapa a) (mistura A);

c) Preparar uma solução aquosa de pelo menos um sal de íon de metal monovalente ou um polímero biocompatível e biodegradável (mistura B);

d) Adicionar a solução B à mistura A;

e) preparar uma solução ou uma dispersão de pelo menos um polímero gastrorresistente e enterossolúvel (mistura C);

f) Adicionar a mistura C à mistura B;

g) nebulizar ou extrusar a solução ou suspensão da etapa f) em uma solução aquosa de um sal de íon inorgânico divalente ou trivalente solúvel;

h) como uma alternativa para a etapa g), nebulizar e secar a mistura da etapa f) através de secador por spray.

16. Processo de acordo com a reivindicação 15, em que a dita mistura A é uma solução, suspensão ou emulsão compreendendo pelo menos um polímero biocompatível e biodegradável, um tensoativo aniônico, catiônico, anfotérico ou não-iônico e pelo menos uma substância biologicamente ativa.

17. Processo de acordo com a reivindicação 16, em que a mistura A obtida na etapa b) é preferivelmente uma emulsão ou uma suspensão que é obtida dissolvendo uma quantidade igual de um polímero biocompatível e biodegradável e um tensoativo aniônico, catiônico, anfotérico ou não-iônico em água destilada, preferivelmente a temperatura ambiente, as quantidades dos dois componentes mencionados acima estando, respectivamente, compreendidas entre: 0,1% e 50% p/v, preferível entre 0,4% e 30% p/v.

18. Processo de acordo com as reivindicações precedentes, em que, à solução assim preparada é adicionada a substância ativa com agitação constante, que é continuada até uma solução, suspensão ou emulsão estável ser obtida (mistura A), a quantidade de substância ativa adicionada estando compreendida entre 0,1% p/v e 50% p/v, preferivelmente entre 0,4% e 30% p/v.

19. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 18, em que a dita mistura B é uma solução aquosa de pelo menos um sal de íon de metal monovalente de um polímero biocompatível e biodegradável.

20. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 19, em que a solução C é uma solução de tampão em um pH compreendido entre 5 e 9, preferivelmente entre 7 e 8, e que compreende um polímero gastrorresistente e enterosolúvel em uma quantidade entre 10% e 30% p/v, preferivelmente entre 15% e 25% p/v.

21. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 20, em que a solução B é adicionada à mistura A em uma relação volumétrica de 1:2, e a solução assim obtida é adicionada à mistura C em uma relação volumétrica de 3:1.

22. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações

15 a 21, em que na etapa g), a nebulização ocorre através de orifícios, bicos, ou agulhas com dimensões entre 10 μm e 5000 μm , preferivelmente entre 300 μm e 2000 μm , e a extrusão ocorre por meio de microencapsuladores automáticos, semi- automáticos, peristálticos, pistão ou outras bombas, ou usando seringa automática a manualmente ativada e / ou automática operando em uma velocidade tal para produzir 10 e 250 gotas / minuto, preferivelmente de 20 a 120 gotas/minuto.

23. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 22, em que, na etapa g), a dita solução de sal inorgânico de íon divalente ou trivalente é uma solução aquosa de cloretos de cálcio, bário, estrônio, zinco, alumínio, ferro ou cromo.

24. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 23, em que a dita solução de sal inorgânico tem uma concentração de entre 0,1 e 2,0 M, preferivelmente entre 0,2 e 0,8 M.

25. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 24, adicionalmente compreendendo a etapa de ligação cruzada de superfícies externas dos sistemas microparticulados, através do uso de agentes de ligação cruzada tais como: sulfato ou fosfato de protamina, bromidrato de poli-L-lisina, polivinilamina, ou quitosanas.

26. Processo de acordo com a reivindicação 25, em que os ditos agentes de ligação cruzada são soluções aquosas em concentrações entre 0,1 e 5% p/v.

27. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 26, adicionalmente compreendendo a etapa de liofilização dos ditos sistemas microparticulados.

28. Processo de acordo com a reivindicação 15, em que à mistura de componentes ativos, com excipientes conhecidos daqueles versados na técnica, são adicionados agentes de ligação e outros excipientes para dar uma massa úmida que é extrusada por meio de um granulador para dar grânulos esferoidais.

29. Processo de acordo com a reivindicação 28, em que os ditos grânulos esferoidais têm uma distribuição granulométrica compreendida en-

tre 50 e 1000 microns, e preferivelmente entre 150 e 500 microns.

30. Processo de acordo com a reivindicação 28 ou 29, em que os ditos grânulos esferoidais são revestidos com um polímero gastrorresistente e enterossolúvel.

RESUMO

Patente de Invenção: "**SISTEMAS MICROPARTICULADOS PARA ADMINISTRAÇÃO ORAL DE SUBSTÂNCIAS BIOLÓGICAMENTE ATIVAS**".

A presente invenção refere-se aos sistemas microparticulados
5 gastrorresistentes e enterossolúveis para encapsular substâncias biologicamente ativas selecionadas de: flavonóides, vitaminas, antioxidantes, imunostimulantes, polissacarídeos engomados e não engomados, probióticos, prebióticos, reguladores do trofismo intestinal, oligoelementos, enzimas e
10 peptídeos bioativos. Tais sistemas microparticulados permitem a administração das substâncias nutracêuticas mencionadas acima para animais tais como suínos, bovinos, caprinos, ovinos, eqüinos, canídeos, felinos, camélídeos, lagomorfos, roedores, aves selvagens e outros mamíferos inclusive seres humanos, peixes e crustáceos, aumentando a biodisponibilidade.