



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

(11) (21) **PI 0700832-5 A**

(22) Data de Depósito: 16/03/2007
(43) Data de Publicação: 04/11/2008
(RPI 1974)



(51) *Int. Cl.:*
A61K 9/51 (2008.04)
A61P 23/02 (2008.04)
A61K 47/48 (2008.04)

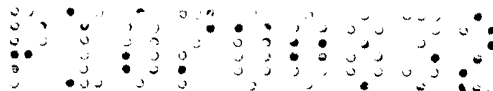
(54) Título: **COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA
NANOPARTICULADA PARA USO TÓPICO**

(71) Depositante(s): Biolab Sanus Farmacêutica Ltda. (BR/SP) ,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS (BR/RS)

(72) Inventor(es): Dante Alario Júnior, Sílvia Stanisçuaski Guterres,
Adriana Raffin Pohlmann, Lali Ronsoni Zancan

(74) Procurador: Di Blasi, Parente, S. G. & Associados

(57) Resumo: COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA NANOPARTICULADA PARA USO TÓPICO. A presente invenção se refere a uma composição anestésica nanoparticulada para uso tópico em que pelo menos um agente anestésico local está encapsulado em nanopartículas poliméricas. A presente invenção também se refere ao uso de tais nanopartículas poliméricas compreendendo pelo menos um agente anestésico local, na preparação de uma composição anestésica para aplicação tópica sobre a pele ou mucosas.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para:
"COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA NANOPARTICULADA PARA USO TÓPICO".

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere a uma composição
5 anestésica compreendendo pelo menos um agente anestésico
local em nanopartículas poliméricas, bem como ao uso de
tais nanopartículas poliméricas compreendendo pelo menos um
agente anestésico local, na preparação de uma composição
anestésica para aplicação tópica sobre a pele ou mucosas.

10 FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

Os anestésicos locais são fármacos que provocam uma
redução da sensibilidade e/ou da função motora, na área de
aplicação corporal, através do bloqueio da condução
nervosa. Idealmente, um anestésico local não deve provocar
15 irritação nem danos ao tecido nervoso ou aos tecidos
próximos à área de aplicação. Complementarmente, é
desejável que sua ação se limite à área de aplicação, de
forma que não se promova a anestesia de outras áreas, nem
efeitos sistêmicos indesejáveis. Também é desejável que a
20 duração da ação analgésica seja prolongada, de forma a
conferir um tempo de cobertura que sobrepuje o tempo de
duração do estímulo doloroso (por exemplo, tempo de
intervenção cirúrgica).

Objetivando o aumento da potência e do tempo de ação,

bem como a redução do potencial de efeitos adversos, diversas abordagens têm sido utilizadas para a produção de anestésicos locais; dentre as quais podem ser citadas: o uso associado de agentes vasoconstrictores (por exemplo, 5 epinefrina), o desenvolvimento de moléculas anestésicas com maior afinidade pelo tecido nervoso (por exemplo, bupivacaína, ropivacaína), o uso de formulações na forma de lipossomas (por exemplo, lidocaína lipossomal - Elamax®). Por sua vez, tais abordagens têm como desvantagens a 10 ocorrência de efeitos colaterais locais (por exemplo, necrose tecidual, decorrente de vasoconstricção prolongada) ou sistêmicos (por exemplo, risco de arritmias cardíacas e outros problemas cardiovasculares).

Outra abordagem que tem sido utilizada é a produção de 15 formulações de micro-partículas com dimensões superiores a 1 micrometro de liberação prolongada, baseadas no uso de polímeros biodegradáveis, tais como as apresentadas nas publicações WO9509613, WO9749391, EP1132080, WO0258670, WO06013309, WO06047279 e em uma série de artigos 20 científicos.

No entanto, a grande maioria das formulações de anestésicos locais tem como desvantagem a necessidade de injeção para que atinjam um grau adequado de eficácia.

Vale comentar que, no caso de formulações injetáveis,

além da necessidade do uso de formulações estéreis e de dispositivos para aplicação, também estéreis, o processo de injeção de anestésicos é um processo doloroso, que gera desconforto, principalmente quando utilizado em crianças ou em pacientes com aversão a injeções.

Neste contexto, a aplicação tópica sobre a pele de anestésicos representa uma interessante alternativa para a administração de anestésicos locais. Entretanto, sua aplicação é limitada à baixa permeabilidade pela pele e pelo limitado tempo de ação das formulações.

A baixa permeabilidade da pele é atribuída, entre outros fatores, à barreira formada pela camada córnea que é formada por cornéocitos, cuja bicamada lipídica aumenta a resistência a substâncias ionizadas ou com baixa lipossolubilidade. Assim, o fluxo através da pele depende da natureza química das substâncias. Via de regra, fármacos lipídicos são absorvidos através da camada córnea, com coeficientes de permeação variáveis, e fármacos hidrofílicos são absorvidos quase exclusivamente por via paracelular, com coeficientes de permeação praticamente constantes. Devido à dificuldade no controle da penetração de fármacos através da pele, agentes químicos, físicos e sistemas carreadores vêm sendo pesquisados a fim de superar tal limitação.

Em relação aos produtos anestésicos de uso tópico sobre a pele, como por exemplo o creme EMLA[®] (creme contendo 2,5% lidocaína e 2,5% de prilocaína, AstraZeneca do Brasil Ltda.) além de apresentarem eficácia anestésica inferior aos anestésicos injetáveis, o tempo necessário para a promoção de anestesia satisfatória na pele íntegra é de 1 a 2 horas, dependendo do tipo de procedimento, sendo que esse tempo de início da ação varia conforme as diversas áreas do corpo (pele e mucosas) e em condições diferentes da pele (com lesão, íntegra ou espessura).

Assim, considerando que os produtos comercializados e conhecidos no atual estado da técnica, utilizados como anestésicos locais, apresentam inconvenientes, sendo que no caso dos produtos injetáveis o problema está relacionado à forma de aplicação, devido à injeção ser um procedimento doloroso e que gera desconforto. Por outro lado, no caso de produtos para aplicação tópica sobre a pele as desvantagens estão associadas à baixa absorção através da pele, tempo prolongado de início da ação e eficácia anestésica inferior.

Assim, visando à obtenção de produtos anestésicos locais com adequado perfil de segurança e eficácia, bem como com uma administração sem necessidade de injeção, e com o tempo reduzido para o início da ação anestésica, os

presentes inventores pesquisaram a eficácia de formulações anestésicas em que o agente anestésico local está contido em nanopartículas poliméricas, quando estas são aplicadas topicamente.

5 Embora existam relatos sobre a produção de nanopartículas de agentes anestésicos, em artigos científicos (por exemplo, Gorner T. e col. "Lidocaine-loaded biodegradable nanospheres I. Optimization of the drug incorporation into the polymer matrix". Journal of
10 Controlled Release 57 (1999) 259-268; Polakovic M. e col. "Lidocaine loaded biodegradable nanospheres II. Modelling of drug release". Journal of Controlled Release 60 (1999) 169-177; Chung, T. e col. "Effects of solvent evaporation rate on the properties of protein-loaded PLLA and PDLA
15 microspheres fabricated by emulsion-solvent evaporation process". J Microencapsul. 19 (2002) 463-71); Schwarz C & Mehnert W; "Freeze-drying of drug-free and drug-loaded solid lipid nanoparticles (SLN)". INT. J. PHARM (1997), V157, P171-9.; Govender T e col.; "Defining the drug
20 incorporation properties of PLA-PEG nanoparticles". INT. J. PHARM (2000), V199, p95-110; e em publicações de patentes (por exemplo, WO06056064 que descreve uma formulação nanoparticulada para aplicação injetável, principalmente por via intravenosa), dentro dos melhores conhecimentos dos

presentes inventores, não existe, no atual estado da técnica, qualquer referência sobre a eficácia de um produto anestésico local para aplicação tópica sobre a pele ou mucosas, compreendendo um agente anestésico em nanopartículas poliméricas, ou qualquer referência ao fato de que tal formulação possa apresentar eficácia superior à de formulações anestésicas não nanoparticuladas para uso tópico. Neste mesmo contexto, não existe qualquer referência ao surpreendente fato, evidenciado pelos presentes inventores, de que a formulação de agentes anestésicos em nanopartículas poliméricas pode levar a um maior tempo de anestesia e a uma maior previsibilidade do efeito anestésico que formulações não nanoparticuladas.

Neste contexto, é digno de nota que a patente US6203802, que descreve métodos de tratamento das camadas superficiais da epiderme, baseados na aplicação tópica, sobre a pele, de nanopartículas poliméricas encapsulando pelo menos um ingrediente ativo, não contém qualquer referência sobre nanopartículas poliméricas para a veiculação de agentes anestésicos locais e não faz qualquer referência ao uso de tal tipo de formulação para provocar analgesia local, cuja ação ocorre na derme.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

- Figura 1: porcentagem de anestesia promovida pelos

hidrogéis G5-PCL-TWE, G5-EUD-EPK, G3-PCL-TWE, G5-PCL-TWE 0,75% e creme comercial EMLA[®] após administração tópica de 20 minutos na cauda dos ratos (n = 11/grupo).

- Figura 2: porcentagem de anestesia promovida pelos hidrogéis G5-PCL-TWE, G5-EUD-EPK, G3-PCL-TWE, G5-PCL-TWE 0,75% e creme comercial EMLA[®] após administração tópica de 10 minutos na cauda dos ratos (n = 11/grupo).

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere a uma composição anestésica compreendendo pelo menos um agente anestésico local em nanopartículas poliméricas em uma quantidade terapeuticamente eficaz e pelo menos um agente aumentador da viscosidade.

A presente invenção também se refere ao uso de nanopartículas poliméricas compreendendo pelo menos um agente anestésico local, na preparação de um produto anestésico local para aplicação tópica sobre a pele ou mucosas.

Conforme a presente invenção, o termo nanopartículas poliméricas se refere a sistemas carreadores de fármacos, com dimensões inferiores a 1 μm , em que o ingrediente ativo é retido, encapsulado ou adsorvido. O termo nanopartículas poliméricas pode ser usado para denotar nanoesferas e nanocápsulas. Nanoesferas são constituídas por matriz

polimérica na qual o ingrediente ativo é retido, disperso ou adsorvido. Nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo, podendo o ingrediente ativo estar dissolvido, retido ou
5 disperso no núcleo e/ou adsorvido à parede polimérica.

De uma forma geral, os processos de produção de nanopartículas poliméricas podem ser classificados em métodos de polimerização *in situ* ou em métodos com o uso de polímeros pré-formados.

10 Polímeros comumente empregados na preparação de nanopartículas são, por exemplo, poli (lactídeo), poli (lactídeo-glicolídeo), poli (glicolídeo), poli (caprolactona), poli (amidas), poli (anidridos), poli (aminoácidos), poli (ésteres), poli (cianoacrilatos), poli
15 (fosfazinas), poli (fosfoésteres), poli (esteramidas), poli (dioxanonas), poli (acetais), poli (cetais), poli (carbonatos), poli (ortocarbonatos), poli (uretanos) degradáveis, quitinas, quitosama, poli (hidroxibutiratos), poli (hidroxivaleratos), poli (ácido málico), poli
20 (alquilenooxalatos), poli (alquilenosuccinatos), poli (hidroxibutiratos-co-hidroxivaleratos), e copolímeros terpolímeros, celulose oxidada, ou combinação ou misturas desses materiais.

Alguns polímeros que demonstraram ser especialmente

interessantes são poli (ϵ -caprolactona) (PCL; por exemplo, poli (ϵ -caprolactona) 65 Kd - Sigma Aldrich); copolímeros do ácido metacrílico e de ésteres acrílicos ou metacrílicos (por exemplo, Eudragits®); poli (metacrilato de alquila);
5 poli (metacrilato de metila) (por exemplo, PMM).

Nanopartículas poliméricas podem ser produzidas, por exemplo, pelos métodos: (i) polimerização in situ de monômeros (látex) ou dispersão de polímeros pré-formados (pseudolátex ou látex artificial) conforme descrito em De
10 Jaeghere F et al. Nanoparticles. In: Mathiowitz E, ed. The Encyclopedia of Controlled Drug Delivery. New York, NY: Wiley and Sons Inc; 1999: 641-664 e Couvreur P, et al. Controlled drug delivery with nanoparticles: Eur J Pharm Biopharm. 1995; 41: 2-13; (ii) método de
15 emulsificação-evaporação para uso farmacêutico proposto primeiramente em Gurny R, Peppas NA, Harrington DD, Banker GS. Development of biodegradable and injectable latices for controlled release of potent drugs. Drug Dev Ind Pharm. 1981; 7: 1-25 e foi baseada na patente US4177177, sendo o
20 polímero dissolvido em solvente orgânico volátil imiscível em água. A solução orgânica é dispersa numa fase aquosa contendo emulsificante e facilitadores de formação de emulsão óleo/água; (iii) de deposição interfacial de

polímeros pré-formados (nanoprecipitação) conforme descrito por Fessi et al na patente US5049322, sendo este último um processo especialmente interessante.

Solventes orgânicos que podem ser utilizados para a
5 preparação de nanopartículas são: álcoois de cadeia pequena (metanol, etanol, isopropanol, etc.), cetonas de cadeia pequena (acetona, metil-etil-cetona, etc.), hidrocarbonetos leves ou a mistura de hidrocarbonetos leves (hexano, éter de petróleo, etc.), hidrocarbonato clorado leve
10 (clorofórmio, cloridrato de metileno, tricloridratoetileno, etc.), ou outros solventes leves comuns como a acetonitrila, dioxana, etc. Um solvente particularmente interessante é a acetona.

O uso de tensoativos é comumente empregado para evitar
15 a agregação das partículas durante a estocagem. Exemplos de tensoativos que podem ser empregados são: lecitinas, sintéticos, aniônicos (por exemplo, laurilsulfato de sódio), catiônicos (por exemplo, amônio quartenário) ou não iônicos (por exemplo, monoésteres de sorbitana, contendo ou
20 não resíduos de polioxietileno, éteres formados entre álcoois graxos e polietileno glicol, polioxietileno - polipropileno glicol, etc.). São particularmente interessantes combinações de tensoativos lipofílicos com baixos valores de equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) (por

exemplo, ésteres de sorbitana - Span 20 ou Span 60) e tensoativos hidrófilos com valores de EHL elevado (ésteres de sorbitana etoxilados -Tween 80), ou ainda apenas um único tensoativo não iônico de elevado EHL (como o Tween 5 80).

Conforme a presente invenção, o termo agente anestésico local se refere a fármacos que bloqueiam reversivelmente a condução nervosa quando aplicados a uma região circunscrita do corpo. Os agentes anestésicos locais da presente invenção podem ser selecionados do grupo 10 consistindo de, mas não limitados, ao éster de benzoato ou amino-éster, anilida amino-amida, naftoato amino-éster, ácido benzóico, pramoxina, diclonina, ou mexiletina, entre outros; Anestésicos de base livre: lidocaína, prilocaína, 15 bupivacaína, mepivocaína, etidocaína, butanilcaína, trimecaína, ou, alternativamente, tetracaína, benzocaína, ropivacaína, dibucaína, procaína, clorprocaína, butambeno, picrato, dibucaína, articaína e xilocaína, e seus sais, derivados ou misturas. O anestésico local pode ser usado em 20 forma de sal, por exemplo, cloridrato, bromidrato, acetato, citrato, carbonato ou sulfato.

De acordo com a presente invenção, as referidas nanopartículas encapsulando pelo menos um agente anestésico local podem alcançar um efeito anestésico equivalente ou

superior utilizando uma quantidade inferior do agente anestésico local, bem como podem alcançar um efeito com potência anestésica mais previsível e com duração mais longa em comparação com composições equivalentes não nanoparticuladas disponíveis comercialmente como, por exemplo, EMLA®.

De acordo com um aspecto da presente invenção, a concentração de pelo menos um dos anestésicos ser na faixa de 0,5 a 10% da composição. Especialmente, a presente invenção compreende uma combinação de pelo menos dois agentes anestésicos, tal como uma combinação de lidocaína e prilocaína em uma quantidade de cerca de 5% de anestésicos, sendo cerca de 2,5% de lidocaína e cerca de 2,5% de prilocaína.

Conforme a presente invenção, o termo agente aumentador da viscosidade se refere a uma substância capaz de aumentar a viscosidade de formulações líquidas ou semi-sólidas (por exemplo, soluções, suspensões, emulsões, cremes, pomadas, géis). Os agentes aumentadores da viscosidade podem ser selecionados do grupo consistindo de, mas não limitados aos polímeros naturais (por exemplo, celulose, gomas, amidos e etc.) ou polímeros não naturais (por exemplo, carboxipolimetileno (carbopol), hidroxietilcelulose, metil e propil celulose,

poli(etilenoglicol), resinas de poli(vinilpirrolidonas) (PVP), etc.).

Conforme um aspecto preferencial da presente invenção, as composições compreendidas pela presente invenção possuem
5 viscosidade suficiente para facilitar a aplicação local, sem que haja escorrimento para áreas indesejadas. Particularmente, as composições compreendidas pela presente invenção possuem viscosidade superior a 50 cp, preferencialmente, superior a 100 cp. Formulações com
10 viscosidade de cerca de 100000 a 800000 cP demonstraram ser interessantes por apresentarem bom controle de espalhamento para a aplicação tópica. Entre estas, formulações com viscosidade inferior a de cerca de 650000 cP demonstraram ser ainda mais interessantes em comparação com formulações
15 mais viscosas, por apresentarem maior potência e tempo de ação, em comparação com formulações com quantidades equivalentes de agentes anestésicos em nanopartículas.

EXEMPLOS

Os seguintes exemplos experimentais ilustram a
20 presente invenção, sem, contudo, limitar a abrangência de seu escopo.

Exemplo 1: Produção de nanopartículas de anestésicos.

Nanopartículas de anestésicos foram preparadas segundo a composição de fases apresentada na Tabela 1.

Primeiramente foi preparada a fase orgânica, dissolvendo-se em acetona o polímero (poli(ϵ -caprolactona), Eudragit S100 ou polimetacrilato de metila), o tensoativo (SPAN60F ou Epikuron 170) e a mistura de princípios ativos (lidocaína e prilocaína). Esta fase foi mantida sob agitação e aquecimento moderado (30 a 40°C), até a dissolução total dos componentes. Num becker em separado foi preparada a fase aquosa, contendo tensoativo (Tween 80) disperso em água. Após completa dissolução dos componentes, a fase orgânica foi vertida lentamente, com o auxílio de um funil, sobre a fase aquosa, sob agitação moderada à temperatura ambiente, e mantida sob agitação por mais 10 minutos. Em seguida, a suspensão foi concentrada, em um evaporador rotatório, com pressão de 3-6 bar e temperatura de banho de 40-45°C, a um volume final de cerca de 100 mL.

Tabela 1: Composição das fases, utilizadas para produção de nanopartículas

Suspensões	LIDO (g)	PRL (g)	S100 (g)	PCL (g)	EPK (g)	SPA (g)	TWE (g)	H ₂ O (mL)	ACE (mL)
5-PCL-TWE	2,5	2,5		1,0			1,0	320 (40 %)	480 (60 %)
5-EUD-TWE	2,5	2,5	1,0				1,0		
5-EUD-EPK	2,5	2,5	1,0		0,7		0,7		
3-PCL-TWE	1,5	1,5		1,0			1,0		

3-PCL-SPA	1,5	1,5		1,0		0,7	0,7		
3-EUD-TWE	1,5	1,5	1,0				1,0		
3-EUD-SPA	1,5	1,5	1,0			0,7	0,7		
3-EUD-EPK	1,5	1,5	1,0		0,7		0,7		

LIDO: lidocaína, PRL: prilocaína, S100: Eudragit S100[®], PCL: Poli(ε)-caprolactona 65Kd (Sigma Aldrich), EPK: Epikuron 170[®]; TWE: Tween 80[®], SPA: Span 60[®], H₂O: Água, ACE: Acetona.

As suspensões concentradas foram avaliadas em relação ao diâmetro médio, teor total de lidocaína e prilocaína e taxa de associação da lidocaína e prilocaína às nanocápsulas (Tabela 2).

5 Tabela 2: Diâmetro médio, taxas de associação e teores de ativos nas nanopartículas

Suspensões	Diâmetro Médio (nm)	Taxa de Associação (%)		Teor (%)	
		Lidocaína	Prilocaína	Lidocaína	Prilocaína
5-PCL-TWE	132	86	78	96	98
5-EUD-TWE	142	75	73	98	94
5-EUD-EPK	181	87	86	103	98
3-PCL-TWE	116	88	80	101	99
3-PCL-SPA	164	91	79	89	93
3-EUD-TWE	175	87	84	100	97
3-EUD-SPA	198	83	81	86	90

3-EUD-EPK	134	77	76	98	95
-----------	-----	----	----	----	----

A avaliação do diâmetro e do índice de polidispersão das partículas em suspensão foi determinada através de espalhamento de luz dinâmico (Zetasizer® nano-ZS modelo ZEN 3600, Malvern, EUA). As amostras foram diluídas 500 vezes, 5 à temperatura ambiente; em água ultrafiltrada.

Para a determinação do teor total de lidocaína e prilocaína, as suspensões foram tratadas com acetonitrila para a dissolução de todos os componentes da formulação. Posteriormente, uma alíquota da suspensão foi transferida 10 para um balão de 10 mL e o volume completado com acetonitrila. Filtrou-se a solução em membrana hidrofílica (Millipore, 0,45 μm) e os teores de lidocaína e prilocaína foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

15 A concentração de lidocaína/prilocaína incorporada às nanoestruturas foi determinada por HPLC, pela diferença entre as concentrações totais de lidocaína/prilocaína na formulação e as concentrações presentes na fase aquosa da suspensão. As concentrações totais associadas às 20 nanoestruturas foram determinadas pela dissolução das nanocápsulas em acetonitrila, como descrito acima para a determinação do teor total de lidocaína e prilocaína. Para

determinar as concentrações de lidocaína/prilocaína presentes na fase aquosa, empregou-se a ultrafiltração-centrifugação das suspensões (Ultrafree® -MC Millipore 10.000Å) durante 5 minutos, a 12.000 rpm. Desta forma, as nanopartículas poliméricas e nanoemulsões ficaram retidas e a lidocaína/prilocaína não associadas passaram através da membrana, sendo, então, quantificadas no ultrafiltrado utilizando as mesmas condições descritas para a determinação da concentração total dos anestésicos locais.

Adicionalmente, foram realizados testes, em que foram utilizadas diferentes proporções/quantidades de água e acetona (água: 533 mL / acetona: 267 mL; água: 300 mL / acetona: 300 mL; água: 400 mL / acetona: 400 mL); tendo se verificado que a variação das quantidades e proporções de água e acetona, na faixa testada, não influenciou significativamente no tamanho das nanopartículas e na taxa de associação dos agentes anestésicos às nanopartículas.

Exemplo 2: Preparação dos Hidrogéis contendo as suspensões de nanocápsulas e nanoemulsões.

Hidrogéis foram preparados com a incorporação de Carbopol® 940 (carboxipolimetileno), para uma concentração final de 0,25%, 0,75% e 1,5%, as suspensões de nanopartículas preparadas conforme o exemplo 1; sendo a massa final ajustada com a adição de água destilada para a

obtenção de um teor final nominal de 5% de anestésicos para as formulações G 5-PCL-TWE, G 5-PCL-TWE 0,75% e G 5-EUD-EPK (preparadas, respectivamente, com o uso das suspensões concentradas 5-PCL-TWE e 5-EUD-EPK, produzidas conforme o exemplo 1) e de 3% para a formulação G 3-PCL-TWE (preparada com o uso da suspensão concentrada 3-PCL-TWE, produzida conforme o exemplo 1).

As características reológicas das formulações semi-sólidas foram avaliadas com auxílio de um viscosímetro rotacional Brookfield, os modelos RV DV I+ e LV DVII + PRO, utilizando-se spindle SC4-25, com velocidades 2,0 e 2,5 RPM (Tabela 3).

Tabela 3: Viscosidade de hidrogéis géis contendo carboximetilcelulose em concentrações de 0,25%, 0,75% e 1,5%:

%	Carbopol 940	Formulação	Viscosidade (cP)	
			Velocidade 2,0 RPM	Velocidade 2,5 RPM
1,5		G 5-PCL-TWE	791000	659400
		G 3-PCL-TWE	730000	604100
		G 5-EUD-EPK	307200	251900

0,75	G 5-PCL-TWE 0,75%	640000	520200
	G 3-PCL-TWE 0,75%	366000	315400
	G 5-EUD-EPK 0,75%	102000	75400
0,25	G 5-PCL-TWE 0,25%	215000	178000
	G 3-PCL-TWE 0,25%	115000	104000

Exemplo 3: Avaliação da atividade anestésica *in vivo*.

A determinação da porcentagem de anestesia *in vivo* promovida por hidrogéis contendo nanopartículas de lidocaína e prilocaína foi determinada, em camundongos, com
 5 emprego da técnica "Tail Flick" (Kolesnikov Y. e col. "Evaluation of the tail formalin test in mice as a new model to assess local analgesic effects". Brain Research, v. 1029, p. 217-223, 2004); tendo sido realizado, para
 10 comparação, o produto comercial EMLA[®] (creme contendo 2,5% lidocaína e 2,5% de prilocaína, AstraZeneca do Brasil Ltda.).

Para análise do efeito anestésico foram utilizados 5 grupos:

- Grupo controle positivo (1 grupo): Aplicação tópica do
 15 produto comercial EMLA[®].
- Grupo controle negativo (1 grupo): Hidrogel contendo nanocápsulas sem fármacos.

- Grupos teste (4 grupos): Aplicação tópica de hidrogéis de suspensões de nanopartículas contendo lidocaína e prilocaína, conforme teores de anestésicos e composição das nanopartículas definidos na tabela 4.

5 **Tabela 4: Teor de anestésicos e composição das nanopartículas utilizadas em testes de efeito anestésico.**

Gel	Nanopartículas utilizadas	Teor lidocaína no gel %	Teor prilocaína no gel %	Teor carbopol no gel %
G5-PCL-TWE	5-PCL-TWE	2,55	2,5	1,5
G5-EUD-EPK	5-EUD-EPK	2,45	2,38	1,5
G3-PCL-TWE	3-PCL-TWE	1,55	1,47	1,5
G5-PCL-TWE 0,75	5-PCL-TWE	2,55	2,5	0,75

Para a realização dos testes foram utilizados camundongos albinos Swiss adultos, fêmeas e com peso variando entre 30 e 35 g. Os animais foram mantidos no Biotério em gaiolas com no máximo 5 animais e tiveram livre acesso a água e alimentação.

Durante o experimento os animais foram mantidos dentro de um contensor com a cauda estendida para fora do mesmo. Primeiramente avaliou-se a linha de base de sensibilidade (BL) de cada animal através de equipamento analgesímetro

(Analgesímetro tail flick modelo EFF-300). Inicialmente, as caudas dos animais foram em imergidas em DMSO por 2 minutos. Posteriormente, após remoção do DMSO com uma gaze úmida, as caudas dos animais foram cuidadosamente imersas em tubos tipo Eppendorf contendo a formulação semi-sólida para teste conforme o grupo. Após 10 e 20 minutos de aplicação de dada formulação a mesma foi removida utilizando uma gaze umidificada. Colocou-se a cauda do animal na superfície do equipamento provido de um filamento metálico aquecido. Para a avaliação da analgesia mediu-se o tempo de latência (TL) para a reação do estímulo induzido pelo calor através do movimento da cauda. O tempo máximo de exposição à radiação foi de 6 segundos, para minimizar lesões teciduais na cauda do animal. Para cada animal realizaram-se três medições de tempo de latência.

Os resultados foram avaliados quanto à porcentagem de anestesia obtida para cada animal, conforme equação:

$$\% \text{ anestesia} = 100 \times (TL - BL) / (6 - BL)$$

Onde: TL = Tempo de Latência sob efeito da formulação anestésica; TB = Tempo de Latência basal; 6 = Tempo máximo de exposição à radiação.

A análise estatística dos dados da avaliação da atividade anestésica foi realizada de acordo com o método de ANOVA (Sigma-Stat®, Jandel Scientific, USA), utilizando-

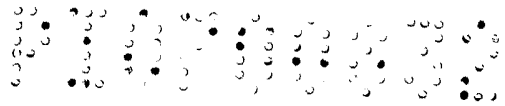
se o creme comercial EMLA como referência.

Com os resultados obtidos, foi possível verificar que a administração tópica dos hidrogéis G5-PCL-TWE, 5-EUD-EPK, 3-PCL-TWE e G5-PCL-TWE 0,75%, com exposição de 20 minutos
5 antes da remoção das formulações, promoveu um aumento considerável na porcentagem e no tempo de anestesia quando comparado com o creme comercial EMLA[®] e, adicionalmente, também demonstrou que mesmo o hidrogel 3-PCL-TWE, que contém 3% de anestésicos, apresentou maior efeito
10 anestésico que o efeito observado com o creme comercial EMLA[®] que contém 5% de anestésicos (Figura 1).

Adicionalmente, também foi possível observar que a administração tópica dos hidrogéis G5-PCL-TWE, 5-EUD-EPK, 3-PCL-TWE e G5-PCL-TWE 0,75%, com exposição de 10 minutos
15 antes da remoção das formulações, promoveu um perfil de anestesia semelhante ao observado com a exposição de 20 minutos, ao contrário do que foi observado com o creme comercial EMLA[®], que promoveu anestesia muito menos intensa com a exposição de 20 minutos em comparação com a de 10
20 minutos (Figura 2).

Todas as publicações mencionadas no relatório descritivo apresentado acima são aqui incorporadas por referência. Várias modificações e variações da descrição aqui apresentada da invenção irão ser evidentes para

aqueles versados na técnica, sem que se afaste do âmbito e do espírito da invenção.



REIVINDICAÇÕES

1. Composição anestésica para aplicação tópica sobre a pele ou mucosas **caracterizada pelo** fato de compreender pelo menos um agente anestésico local em nanopartículas poliméricas em uma quantidade terapeuticamente eficaz e
5 pelo menos um agente aumentador da viscosidade.

2. Composição anestésica, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelo** fato de que os polímeros utilizados na produção das nanopartículas podem
10 ser selecionados do grupo constituído de: poli (ϵ -caprolactona); copolímeros do ácido metacrílico e de ésteres acrílicos ou metacrílicos; poli (metacrilato de alquila); poli (metacrilato de metila), poli (lactídeo), poli (lactídeo-glicolídeo), poli (glicolídeo), poli
15 (caprolactona), poli (amidas), poli (anidridos), poli (aminoácidos), poli (ésteres), poli (cianoacrilatos), poli (fosfazinas), poli (fosfoésteres), poli (esteramidas), poli (dioxanonas), poli (acetais), poli (cetais), poli (carbonatos), poli (ortocarbonatos), poli (uretanos)
20 degradáveis, quitinas, quitosama, poli (hidroxibutiratos), poli (hidroxivaleratos), poli (ácido málico), poli (alquilenooxalatos), poli (alquilenosuccinatos), poli (hidroxibutiratos-co-hidroxivaleratos), e copolímeros terpolímeros, celulose oxidada, ou combinação ou misturas

desses materiais.

3. Composição anestésica, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizada pelo** fato de que os agentes anestésicos locais podem ser selecionados do grupo consistindo de: éster de benzoato ou amino-éster, anilida amino-amida, naftoato amino-éster, ácido benzóico, pramoxina, diclonina, mexiletina, lidocaína, prilocaína, bupivacaína, mepivocaína, etidocaína, butanilcaína, trimecaína, tetracaína, benzocaína, ropivacaína, dibucaína, 5 procaína, clorprocaína, butambeno, picrato, dibucaína, articaína e xilocaína, e seus sais, derivados ou misturas. 10

4. Composição anestésica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizada pelo** fato de que os agentes aumentadores da viscosidade podem ser selecionados do grupo constituído de: celulose e seus derivados, gomas, 15 amidos, carboxipolimetilenos, poli(etilenoglicóis) e poli(vinilpirrolidonas).

5. Composição anestésica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizada pelo** fato de 20 possuir viscosidade superior a 50 cp, preferencialmente, superior a 100 cp.

6. Composição anestésica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizada pelo** fato de possuir viscosidade de cerca de 100000 a 800000 cp.

7. Composição anestésica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, **caracterizada pelo** fato de possuir viscosidade inferior a cerca de 650000 cp.

8. Composição anestésica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, **caracterizada pelo** fato da concentração de pelo menos um dos anestésicos ser na faixa de 0,5 a 10% da composição.

9. Composição anestésica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizada pelo** fato de compreender uma combinação de pelo menos dois agentes anestésicos.

10. Composição anestésica, de acordo com a reivindicação 9, **caracterizada pelo** fato dos agentes anestésicos serem a lidocaína e a prilocaína.

11. Composição anestésica, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizada pelo** fato ter uma concentração de cerca de 2,5% de lidocaína e 2,5% de prilocaína.

12. Uso de nanopartículas poliméricas encapsulando pelo menos um agente anestésico **caracterizado pelo** fato de ser na preparação de uma composição anestésica local para aplicação tópica sobre a pele ou mucosas.

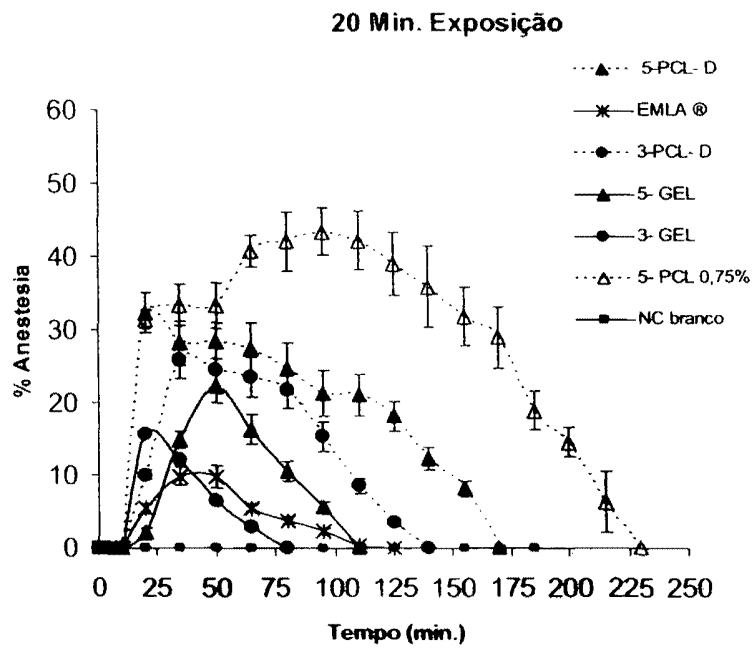


Figura 1:

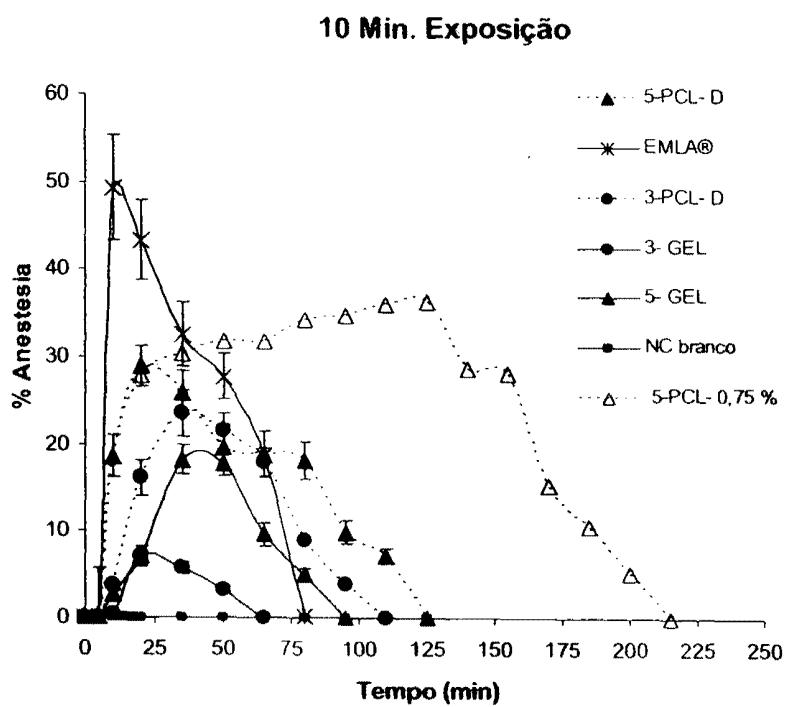


Figura 2:

Resumo da Patente de Invenção para: "COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA
NANOPARTICULADA PARA USO TÓPICO".

A presente invenção se refere a uma composição anestésica nanoparticulada para uso tópico em que pelo
5 menos um agente anestésico local está encapsulado em nanopartículas poliméricas. A presente invenção também se refere ao uso de tais nanopartículas poliméricas compreendendo pelo menos um agente anestésico local, na
preparação de uma composição anestésica para aplicação
10 tópica sobre a pele ou mucosas.