



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

(21) **BR 102013028238-3 A2**

(22) **Data do Depósito:** 01/11/2013

(43) **Data da Publicação:** 11/07/2017



\* B R 1 0 2 0 1 3 0 2 8 2 3 8 A

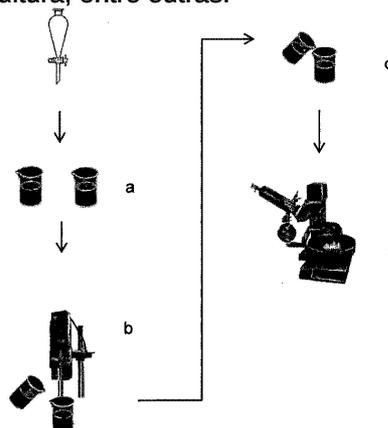
**(54) Título:** PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO

**(51) Int. Cl.:** C08J 3/02; C08G 63/06; C08F 220/64

**(73) Titular(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

**(72) Inventor(es):** RUY CARLOS RUYER BECK; ADRIANA RAFFIN POHLMANN; SÍLVIA STANISÇUASKI GUTERRES; LUCAS ALMEIDA RIGO

**(57) Resumo:** PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO. A presente invenção descreve um processo de obtenção de nanopartículas poliméricas utilizando homogeneização à alta pressão, cujas partículas são capazes de carrear fármacos e outras substâncias ativas, incluindo ativos de uso cosmético e substâncias naturais (modificadas ou não), sintéticas e semissintéticas. O processo de obtenção de nanopartículas apresenta potencialidades de aplicação em diversas áreas como farmacêutica, cosmética, indústria química, têxtil, alimentícia, agricultura, entre outras.



PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO  
HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO

5 **Campo da Invenção**

A presente invenção descreve um processo de obtenção de nanopartículas poliméricas utilizando homogeneização à alta pressão, cujas partículas são capazes de carrear fármacos e outras substâncias ativas, incluindo ativos de uso cosmético e substâncias naturais (modificadas ou não), sintéticas e semissintéticas. Além disso, o processo de obtenção de nanopartículas apresenta potencialidades de aplicação em diversas áreas como farmacêutica, cosmética, indústria química, têxtil, alimentícia, agricultura, entre outras.

15 **Antecedentes da Invenção**

Atualmente, existem alguns métodos de obtenção de nanopartículas poliméricas. O método descrito por Couvreur e colaboradores (Couvreur, P.; Roland, M.; Speiser, P.; Biodegradable submicroscopic particles containing a biologically active substances and their use. US pat. 4,329,332; 1982) consiste na preparação de nanopartículas poliméricas biodegradáveis as quais são preparadas por um processo de polimerização em emulsão (Figura 1). Nesse processo gotas de um monômero insolúvel em água (por exemplo, cianoacrilato de alquila) são emulsificadas em uma fase aquosa ácida, contendo um tensoativo não-iônico sob agitação magnética em temperatura ambiente. Empregando-se este método obtém-se nanopartículas poliméricas matriciais (nanoesferas), geralmente com cerca de 200 nanômetros tamanho. Ainda, há a necessidade de neutralização e filtração da suspensão (Couvreur, P.; Roland, M.; Speiser, P. Process for preparing biodegradable submicroscopic particles containing biologically active substance and their use. US pat. 4,489,055, 1984).

O método da nanoprecipitação (Figura 2), descrito por Fessi e colaboradores (Fessi, H.; Puisieux, F.; Devissaguet, J. P. Procédé de préparation des systèmes colloïdaux d'une substance sous forme de

nanocapsules. European Patent, 0274961 A1, 1988) difere do método anteriormente citado. Esse método consiste na preparação de duas fases, uma orgânica e outra aquosa. A fase orgânica é composta por solvente orgânico miscível em água, onde polímero e óleo são solubilizados e posteriormente  
5 injetados em uma fase aquosa. A fase aquosa deve conter um tensoativo de alto valor de equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL). A presença de um lipídio líquido (óleo) na fase orgânica leva a formação de nanocápsulas (sistemas vesiculares) ao passo que a ausência do mesmo origina a formação de nanoesferas (sistemas matriciais). O processo de formação das nanopartículas  
10 ocorre através injeção da fase orgânica na fase aquosa, cujo mecanismo de estruturação das nanopartículas é devido a turbulência interfacial gerada durante o deslocamento do solvente, pela mútua miscibilidade entre solvente e água. Desta forma, ocorre a precipitação do polímero pré-formado em torno das gotículas oleosas (nanocápsulas) ou da organização espontânea do polímero (nanoesferas), estabilizadas pelo tensoativo. Esse processo ocorre  
15 em temperatura ambiente, geralmente sob agitação magnética.

O método de emulsificação-difusão foi descrito por Quintanar-Guerreiro e colaboradores (Quintanar-Guerrero, D., Alleman, E.; Doelker, E.; Fessi, H. Preparation and characterization of nanocapsules from preformed polymers  
20 by a new process based on emulsification-diffusion technique. *Pharmaceutical Research*, v.15, p. 1056-1062,1998). (Figura 3). Nesse trabalho o processo de obtenção de nanopartículas poliméricas parte do preparo de duas fases (orgânica e aquosa). O solvente utilizado na fase orgânica deve ser parcialmente miscível em água a fim de garantir o equilíbrio termodinâmico  
25 entre as fases. Essa fase é composta por polímero [(poli( $\epsilon$ -caprolactona)], poli(D,L-ácido lático) ou Eudragit E) e, um óleo sintético (triglicerídeos de cadeia média ou óleo mineral). A fase aquosa, por sua vez, é formada por água previamente saturada em acetato de etila e um tensoativo hidrofílico (poli(vinil álcool)) na concentração de 5% m/v. Ambas as fases são emulsificadas  
30 utilizando-se Ultraturrax<sup>®</sup> a 8000 RPM por 10 minutos. Na sequência ocorre a difusão do solvente para a fase contínua através de adição de água ao

sistema, levando à precipitação do polímero em torno das gotículas e à estruturação das nanopartículas. Finalmente a suspensão de nanopartículas poliméricas é levada a um evaporador rotatório para eliminar o solvente orgânico e parte da água.

5 Existem outros trabalhos subsequentes a esse na literatura que utilizam o mesmo procedimento descrito acima e a emulsificação-difusão como método para obtenção de nanopartículas poliméricas. Porém, esses trabalhos propõem outros processos e/ou equipamentos na etapa de emulsificação das fases orgânica e aquosa, como a agitação magnética, agitação mecânica e  
10 sonicação, conforme já demonstrado na literatura (Mora-Huertas, C.E.; Garrigues, O.; Fessi, H.; Elaissari, A. Nanocapsules prepared via nanoprecipitation and emulsification-diffusion methods: comparative study. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 80, p. 235-238, 2012). Até o presente momento, não há relatos sobre o emprego de  
15 homogeneização à alta pressão e tampouco o preparo de uma emulsão primária durante o processo de obtenção de nanopartícula polimérica empregando um método que contemple etapas de emulsificação e diluição. No entanto, Lucks e Müller (Luck, S.; Müller, R. Arzneistoffträger aus festen Lipidteilchen – Feste Lipidnanosphären (SLN), WO 93/05768, 1993) utilizaram  
20 a homogeneização à alta pressão para a fabricação de outro tipo de nanopartícula, conhecida como nanopartícula lipídica (Figura 4). Esse tipo de partícula foi desenvolvido através da substituição do lipídio líquido das emulsões óleo em água por um lipídio sólido ou uma mistura lipídica, sendo a nanopartícula constituída essencialmente por uma matriz lipídica sólida em  
25 temperatura ambiente. Para tanto, o(s) lipídio(s) sólido(s) devem ser fundidos em uma temperatura de até 70°C, constituindo-se, portanto, em uma fase oleosa. Com a ajuda de um dispersor de alto rendimento, essa fase deve ser emulsionada em uma fase aquosa que deverá conter um tensoativo. Após, essa mistura é submetida a um equipamento de homogeneização à alta  
30 pressão por no mínimo 5 ciclos de 500 bar de pressão, resultando em uma

emulsão contendo nanopartículas lipídicas sólidas, cujos componentes estruturais essencialmente são lipídios e não polímeros.

A técnica atual utilizada para o preparo de nanopartículas poliméricas pelo método de emulsificação-difusão parte do preparo de uma fase orgânica e uma fase aquosa, conforme inicialmente descrito por Quintanar-Guerreiro e colaboradores (Quintanar-Guerrero, D., Alleman, E.; Doelker, E.; Fessi, H. Preparation and characterization of nanocapsules from preformed polymers by a new process based on emulsification-diffusion technique. *Pharmaceutical Research*, v.15, p. 1056-1062,1998). A fase orgânica é composta por polímero e óleo, sendo o solvente orgânico utilizado parcialmente miscível em água. A fase aquosa, por sua vez, contém água saturada no solvente orgânico e um tensoativo hidrofílico. As fases devem ser emulsionadas através do uso de algum equipamento que proporcione emulsificação como agitação magnética, homogeneizadores de alto rendimento (modelo Ultraturrax<sup>®</sup>) ou sonicação. Após, a emulsão resultante é submetida à fase de difusão do solvente, cuja etapa compreende a adição de água ao sistema, o que ocasiona a precipitação do polímero em torno das gotículas da emulsão e a subsequente formação das nanopartículas poliméricas.

Destacamos que o presente invento caracteriza-se pelo processo de obtenção de nanopartículas poliméricas utilizando um processo de homogeneização à alta pressão. Esse processo também envolve o uso de duas fases, sendo uma orgânica e outra aquosa com solventes saturados mutuamente; porém, o processo de emulsificação das fases difere do método atualmente utilizado. Primeiramente, a fase orgânica é adicionada na fase aquosa de modo contínuo utilizando um agitador mecânico a 600 Hz por um período de 10 minutos, resultando em uma emulsão primária. Através de análise de difração a laser, a emulsão primária apresenta partículas com distribuição de tamanho na escala micrométrica. Essa emulsão primária não está descrita no método de preparo atualmente conhecido, sendo um dos diferenciais do processo. Na sequência, essa emulsão primária é submetida a homogeneização à alta pressão por um ciclo a 300 bar. A homogeneização a

alta pressão faz com que as partículas apresentem características de homogeneidade e distribuição granulométrica dentro da escala nanométrica. Além disso, o uso de homogeneizador a alta pressão durante o processo de obtenção de nanopartículas poliméricas é outro aspecto vantajoso, sendo a primeira vez que esse tipo de homogeneização é utilizado para essa finalidade. Após essa etapa de homogeneização, o processo de diluição da emulsão primária é realizado através da adição de água de modo contínuo ao sistema, utilizando agitador mecânico a 600 Hz por 10 minutos. A etapa de diluição provoca um desequilíbrio termodinâmico entre os solventes fazendo com que ocorra a migração do solvente orgânico para a fase externa e, conseqüentemente a precipitação do polímero em torno das gotículas de óleo formando, assim, as nanopartículas. Finalmente, a suspensão resultante é submetida a um evaporador rotatório para que o solvente orgânico e parte da água sejam eliminados a 40°C e o volume final de 50 mL seja alcançado.

O processo, aqui descrito, proporciona maior controle do tamanho de partícula e faixa de distribuição granulométrica, quando comparado aos dados relatados sobre obtenção de nanopartículas poliméricas pelo método de emulsificação-difusão empregando a homogeneização por cisalhamento (Ultraturrax®) ou utilizando ultrassom.

O processo de obtenção de nanopartículas poliméricas também apresenta como vantagem maior controle no processo de produção, sendo possível a realização de análises qualitativas entre as etapas de produção a fim de garantir que o produto final tenha as características conforme o planejado.

No estado da técnica foram encontrados registros sobre o uso da homogeneização à alta-pressão para obtenção de nanopartículas poliméricas, porém com aspectos que diferem do presente invento. A seguir, a descrição de alguns documentos encontrados:

Nanocrystals and amorphous nanoparticles and method for production of the same by a low energy process, US pat. 20130095198, 2013 - O invento relata a obtenção de nanopartículas do tipo nanocristais (ou nanopartículas cristalinas) através do uso de homogeneização à alta pressão. De um modo

geral, o processo de obtenção de nanocristais caracteriza-se pela transposição de fármacos ou outras substâncias de interesse da escala micrométrica até a escala nanométrica, através da homogeneização à alta pressão. Segundo a descrição do invento, primeiramente a substância oriunda de cascas de uva (rutina) é dispersa em um meio aquoso contendo um agente estabilizante (tensoativo) com a ajuda de um dispersor de alto rendimento. Em seguida, essa dispersão é submetida a um processo de homogeneização à alta pressão por até oito ciclos de diferentes pressões. O tamanho mínimo de partícula alcançado pelo invento é de 381 nm. Observa-se que durante o processo de obtenção desse tipo de nanopartícula não é necessário o uso de qualquer material polimérico ou oleoso, seja este de origem vegetal ou sintética. Por outro lado, as nanopartículas poliméricas, que são resultantes do processo de obtenção do relatório de invenção apresentado diferem estruturalmente dos nanocristais, pois consistem em sistemas vesiculares envoltos por uma membrana polimérica. Ainda, o processo de obtenção de nanocristais descrito nesse invento não faz o uso de duas soluções (uma orgânica e outra aquosa) e tampouco a etapa de emulsificação-difusão. Adicionalmente, o relatório de invenção submetido à análise não faz restrição quanto ao uso de fármaco ou substância ativa. Portanto, não há qualquer sobreposição do referido invento com o processo de obtenção de nanopartículas poliméricas ora solicitado.

Preparation technology and production method for an integrated new formulation of fluid-increasing decoction. CN 102846935, 2013- O invento relata a obtenção de produtos finais como comprimidos, pós medicinais, supositórios e outras formas farmacêuticas através de processo de decocção de produtos oriundos da medicina Chinesa. Os termos "homogeneização à alta-pressão" e " nanopartículas" são citados no texto do invento como partes isoladas do processo, sendo esses realizados em separado para a obtenção final de tais formas farmacêuticas. Ainda, não há descrição de processo, etapas ou exemplos de obtenção nesse invento. O invento ainda menciona o uso de processos farmacêuticos tais como extração alcoólica e aquosa e separação supersônica à gás. Observa-se que nenhum desses processos citados

descreve o invento com características semelhantes ao processo de obtenção de nanopartículas poliméricas via homogeneização à alta pressão. Ainda, o invento não se refere ao uso de material polimérico e tampouco especifica o tipo de partícula preparado (nanoesfera, nanocápsula ou nanopartícula polimérica). Portanto, esse invento não tem qualquer relação com o processo de obtenção de nanopartículas poliméricas descrita no relatório de invenção.

Process For Preparation Of Crystalline Nanoparticle Suspensions, WO2011102787, 2011 - O invento descreve a preparação e obtenção de nanopartículas cristalinas (nanocristais) através do uso de homogeneização à alta-pressão. De um modo geral, o processo de obtenção desse tipo de nanopartícula caracteriza-se pela cominuição de fármacos ou outras substâncias de interesse de tamanho micrométrico até o tamanho nanométrico através da homogeneização à alta pressão. Segundo o invento, o ingrediente ativo é disperso em uma fase aquosa, cuja concentração pode variar entre 10-30% (m/m). Para tanto, faz-se o uso de um ou mais agentes estabilizantes (tensoativos) e em seguida, tal dispersão é submetida a uma etapa de aquecimento até 10°C acima da temperatura de fusão do ativo a fim de liquefazer o mesmo. Então a solução resultante é resfriada e o ativo ganha a forma cristalina. Durante esse processo, a etapa de sonicação é requerida e em seguida a solução é submetida à etapa de homogeneização à alta pressão. Observa-se que, segundo a descrição do invento, a homogeneização à alta pressão é eventualmente utilizada no processo de obtenção de tais partículas. Considerando que nanocristais diferem estruturalmente de nanopartículas poliméricas, que o referido invento não menciona o uso de material polimérico em sua composição e tampouco menciona o uso de óleos (vegetais ou sintéticos), não faz uso da etapa de emulsificação-difusão. Conclui-se que não há sobreposição ou qualquer tipo de comparação tecnológica desse invento com a presente invenção, com exceção da área do invento, a nanotecnologia.

Nanoparticles comprising a drug, ethycellulose, and a bile salt. US 2010/0119603 A1, 2010 - O invento relata a preparação de nanopartículas a partir de um fármaco insolúvel em água, utilizando etilcelulose como polímero e

sais biliares como agentes estabilizantes. Vários exemplos de preparação empregando diferentes fármacos são descritos nesse invento. Em geral, o fármaco e a etilcelulose (ETHOCEL<sup>®</sup>) são dissolvidos em 6 mL de em diclorometano a fim formar uma fase orgânica. Em seguida, taurocolato de sódio é dissolvido em 24 mL de água, formando assim a fase aquosa. Ambas as fases são pré-emulsificadas por 3 minutos utilizando um homogeneizador de alto rendimento a 10.000 RPM. Em seguida, um segundo processo de emulsificação é realizado através de homogeneização à alta-pressão durante 6 minutos a 12.500 psi de pressão. Após, o diclorometano é removido à pressão reduzida com o uso de um evaporador rotatório e a suspensão resultante filtrada através de um filtro de 1 µm. Esse processo difere do invento proposto por não utilizar o método de emulsificação-difusão como base para o preparo das nanopartículas e não utilizar óleo de qualquer natureza (sintético ou vegetal) na composição da fase orgânica. Além disso, a etapa de pré-emulsificação utiliza homogeneizador de alto-rendimento (modelo Kinematica Polytron 3100 rotor/estator), cujo processo não é relatado na nova tecnologia proposta. Essa patente difere ainda quanto ao uso da homogeneização à alta pressão, pois é utilizada sob refrigeração com outros valores de pressão. Além disso, a suspensão resultante obtida de acordo com o método descrito nessa patente deve ser filtrada, a fim de garantir um tamanho submicrométrico.

Drug loaded polymeric nanoparticles and methods of making and using same US 2011/0274759 A1, 2011 - O invento relata a preparação de nanopartículas a partir de polímeros biocompatíveis. A obtenção das nanopartículas inicia com a preparação de uma fase orgânica composta por polímero, como por exemplo, PLA, PLGA-PEG ou PLGA e 1% do fármaco (exemplo, docetaxel) solubilizados com os solventes acetato de etila e álcool benzílico. Essa fase é emulsificada com uma fase aquosa contendo 0,5% de colato de sódio, 2% de álcool benzílico e 4% de acetato de etila. As fases então são emulsificadas utilizando homogeneização simples ou homogeneizador modelo rotor/estator. Essa primeira emulsão é então submetida à homogeneização à alta pressão ou sonicação a fim de diminuir o tamanho de

partícula. Após esse processo, nessa emulsão resultante é adicionada água deionizada na temperatura entre 0 - 5°C, contendo um tensoativo (Tween 80®). Na sequência, as nanopartículas são separadas via centrifugação ou ultracentrifugação/filtração. Esse invento difere do processo descrito em vários aspectos: não utiliza o método de emulsificação-difusão para o preparo das nanopartículas e tampouco algum tipo de óleo é utilizado na fase orgânica, gerando partícula de composição e estrutura muito diferente. Ainda, nessa patente citada há etapas que não fazem parte do invento proposto como a adição de água resfriada contendo um tensoativo no sistema após a

5  
10

homogeneização à alta-pressão e separação das partículas por ultrafiltração.

Poly lactide nanoparticles US 8,003,128 B2, 2011 e Poly lactide nanoparticles US 2009/0263491 A1, 2009 - Os inventos relatam a preparação de nanopartículas poliméricas de poli (ácido láctico) ou poli (ácido láctico-co-glicólico) a fim de serem utilizadas para alcançar o sistema nervoso central.

15  
20  
25  
30

Essas partículas podem ser obtidas por dois processos diferentes a) homogeneização à alta-pressão ou b) pela técnica da dupla emulsão. Pelo processo que utiliza a homogeneização à alta pressão, polímero e fármaco são solubilizados em solvente orgânico, como por exemplo, diclorometano (fase orgânica). Em seguida, essa fase é adicionada em uma fase aquosa contendo um tensoativo, como o álcool polivinílico sob agitação moderada. A mistura é então homogeneizada com a ajuda de um homogeneizador de alto rendimento (Ultraturrax®) e logo após submetida a processo de homogeneização à alta pressão (modelo APV Micron Lab 40), à 400 bar. O solvente orgânico é removido à temperatura ambiente e pressão normal sob agitação moderada por 3 horas ou pressão reduzida (evaporador rotatório modelo Büchi R-200), na qual durante o processo ocorre a solidificação das nanopartículas na fase aquosa. O processo também pode utilizar compostos adicionais como outros tensoativos e/ou contra-íons. O processo de obtenção dessas partículas pela técnica da dupla emulsão se dá através do preparo das fases orgânica e aquosa, conforme descrito acima. A emulsificação das fases é feita através de homogeneizador de alto rendimento (Ultraturrax®) por 2 minutos a 19.500 RPM.

Essa emulsão é adicionada a 25 mL de uma solução aquosa de tensoativo (por exemplo álcool polivinílico) à 1%, utilizando Ultraturax<sup>®</sup>. Então, essa emulsão é submetida a processo de homogeneização à alta-pressão, a 600 bar de pressão. Na sequência o solvente orgânico é removido por evaporação em condições normais de temperatura e pressão (agitação magnética por 3 horas). Os inventores relatam que outros solventes orgânicos podem ser utilizados na preparação dessas partículas, como acetato de etila; no entanto, esse solvente não pode ser utilizado quando algum aditivo com propriedades de contra-íon for utilizado.

10 O invento descrito acima difere da presente invenção, pois não utiliza o método da emulsificação-difusão como base para a preparação de nanopartículas poliméricas. Ainda, observa-se que nenhum tipo de óleo é utilizado durante qualquer um dos processos, o que resulta numa partícula com composição e estrutura muito diferente. Outra diferença é com relação aos solventes utilizados que são totalmente miscíveis em água, cuja característica de imiscibilidade é imprescindível. As partículas produzidas nesse processo foram delineadas para serem utilizadas de forma única e exclusivamente para a liberação de fármacos no sistema nervoso central, ao contrário da nova tecnologia proposta que contempla muitas outras áreas de aplicação.

20 Nanopartículas preparadas à base de ceras naturais da Amazônia. Processo de obtenção, composição e aplicações das nanopartículas PI0801545-7 A2, 2008 - A invenção trata da obtenção de micro ou nanopartículas a partir do uso de ceras, manteigas e óleos vegetais oriundos da Amazônia como material constituinte dessas partículas com a finalidade de incorporar ativos. As técnicas que compreendem a obtenção dessas partículas são microemulsão à quente ou a frio, microemulsão-ultrasonificação e homogeneização à alta pressão. Os autores enfatizam que o aspecto inovador da presente invenção está na utilização das ceras, manteigas e óleos vegetais da Amazônia como matéria prima de obtenção, especialmente Bacuri, Cupuaçu, Muru-muru, Ucuuba entre outras, que se apresentem no estado sólido em temperatura ambiente e apresentem fusão preferencialmente de

40°C ou superior. O texto não menciona o tipo ou o uso de qualquer material polimérico; igualmente, na descrição do invento não consta o uso do método de emulsificação-difusão para a produção de tais partículas. Embora o texto não especifique claramente o tipo de partícula obtida no final do processo, observa-se claramente que o produto final trata-se de nanopartículas lipídicas. As nanopartículas lipídicas caracterizam-se por apresentarem em sua nanoestrutura uma matriz lipídica composta por um ou uma combinação de lipídios. Em linhas gerais, a preparação das nanopartículas lipídicas compreende primeiramente a fusão da matéria prima graxa (ceras, manteigas, óleos vegetais ou outros de interesse) a fim de formar uma fase orgânica (lipídica). Em seguida essa fase deve ser emulsificada com uma fase aquosa que deve conter no mínimo um tensoativo (agente emulsionante). Esse processo de emulsificação pode ser realizado com dispersores de alto rendimento, agitadores mecânicos ou equipamentos de homogeneização à alta pressão (Souto, E.B; Severino, P.; Santana, M.H.A., Pinho, S.C. Nanopartículas de lipídios sólidos: métodos clássicos de produção laboratorial. *Quimica Nova*, vol. 34, n.10, 2011). Observa-se que não é necessário o uso de qualquer tipo de solvente orgânico durante a preparação dessas nanopartículas proposto na patente descrita.

Existem alguns trabalhos na literatura científica que também demonstram o uso de homogeneização à alta-pressão no processo de obtenção de nanopartículas poliméricas pelo método da emulsificação-evaporação do solvente. Jaiswal e colaboradores (Jaiswal, J.; Gupta, S.K.; Kreuter, J. Preparation of biodegradable cyclosporine nanoparticles by high-pressure emulsification-solvent evaporation process, *Journal of Controlled Release*, vol. 96, 2004) desenvolveram nanopartículas poliméricas de ciclosporina com o intuito de diminuir a toxicidade de uma microemulsão comercializada no mercado (Sandimmun<sup>TM</sup>, Novartis<sup>®</sup>). Para tanto, os pesquisadores avaliaram os copolímeros Poli(DL-ácido láctico-co-ácido glicólico) (DL-PLG) 50/50 e 65/53 e PEG- DLPLG 5000/70:30. A fase orgânica foi composta pelos copolímeros que foram solubilizados em diclorometano através de agitação magnética e 50

mg de ciclosporina. Em seguida essa fase foi pré-emulsionada em água contendo um tensoativo (álcool polivinil) com a ajuda de Ultraturax<sup>®</sup> por dois minutos a 13000 rpm. Essa pré-emulsão foi submetida a um homogeneizador à alta-pressão por quatro ciclos a 500 bar e a suspensão resultante mantida por 24 horas sob agitação magnética a 300 rpm a fim de eliminar o solvente orgânico. Esse trabalho difere em diversos pontos com relação ao invento proposto, como o método utilizado para a preparação das nanopartículas (emulsificação-difusão do solvente), pré-emulsão utilizando homogeneizador de alto rendimento, número de ciclos e pressão.

Dong e Feng (Dong, Y.; Feng, S.S. Poly(D,L-lactide-co-glycolide)(PLGA) nanoparticles prepared by high pressure homogenization for paclitaxel chemotherapy. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 342, 2007) também utilizaram a homogeneização à alta-pressão para desenvolver nanopartículas do polímero biodegradável poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) a fim de controlar a liberação do fármaco quimioterápico paclitaxel através do mesmo método utilizado no trabalho citado anteriormente. A fase orgânica foi constituída por PLGA e fármaco, ambos solubilizados em diclorometano. Após, essa fase foi emulsionada em água contendo PVA, resultando em uma pré-emulsão. Então essa pré-emulsão foi submetida a um equipamento de homogeneização à alta-pressão por dois e três ciclos de 860 e 1550 bar, respectivamente. Para que o solvente orgânico fosse removido, a suspensão resultante foi submetida à agitação magnética por 24 horas e uma forma pulverulenta foi obtida através de secagem por freeze-drying. Novamente, esse processo de obtenção de nanopartículas poliméricas difere da inovação descrita nesse relatório ao utilizar outro método que não a emulsão-difusão do solvente, não fazer uso de qualquer tipo de óleo na fase orgânica, utilizar a homogeneização à alta-pressão em ciclos e pressão diferentes e remover o solvente orgânico através de agitação magnética à temperatura ambiente. Além disso, o impacto ambiental do uso do diclorometano nessas últimas preparações deve ser considerado.

### Sumário da Invenção

O presente invento descreve um processo de obtenção de nanopartículas poliméricas utilizando homogeneização à alta pressão, empregando etapas de emulsificação e diluição. O uso da homogeneização à alta pressão é vantajoso, pois esse procedimento aumenta o controle durante o processo, permitindo que verificações sejam realizadas durante a obtenção, garantindo que o produto final mantenha as características físico-químicas conforme o planejado. Essas verificações traduzem-se especialmente na determinação do diâmetro de partícula durante as etapas envolvidas (emulsão primária, homogeneização, diluição e evaporação do solvente).

Em um aspecto, o diâmetro de partícula e a faixa de distribuição granulométrica podem ser ajustados através da modificação da concentração do tensoativo adicionado à fase aquosa, conforme o planejamento industrial. O ajuste adequado permite obtenção de partículas poliméricas com diâmetro médio menor que 120 nm.

O presente invento apresenta as seguintes vantagens:

- Maior controle do tamanho de partícula e faixa de distribuição granulométrica comparado aos dados relatados para o método de emulsificação-difusão empregando a homogeneização por cisalhamento (Ultraturrax<sup>®</sup>) ou ultrassom;
- É possível obter nanopartículas poliméricas com diâmetro médio ( $d_{4,3}$ ) menor que 120 nm;
- Maior controle de processo, sendo possível a realização de análises durante o processo a fim de garantir que o produto final tenha as características físico-químicas conforme o planejado.

O invento pode ser utilizado para a obtenção de suspensão de nanopartículas poliméricas com aplicação sob diferentes formas, dependendo da área. O processo pode ser utilizado para o desenvolvimento de produtos da área farmacêutica, possibilitando a produção de suspensões de nanopartículas poliméricas capazes de carrear fármacos ou outras substâncias de interesse a

ser administradas por diferentes vias de administração como ocular, parenteral, oral e outras que aceitam administração de medicamentos da forma líquida.

5 A suspensão de nanopartículas poliméricas obtidas pela presente invenção pode ser associada com formas farmacêuticas semissólidas como géis, pomadas, emulsões cremosas e outras de uso externo, sendo possível o seu uso no tratamento de doenças e afecções que acometem toda a extensão do tecido cutâneo. Nesse sentido, a indústria cosmética também se beneficia do invento, através da associação da suspensão de nanopartículas poliméricas obtidas pelo processo descrito na invenção, desde que contenham ativos ou  
10 substâncias de interesse para produção de produtos desse segmento.

Além disso, o presente invento pode ser incluído na linha de produção de produtos farmacêuticos destinados às vias de administração que demandam formas farmacêuticas sólidas como oral e pulmonar, uma vez que o produto obtido pelo invento proposto pode ser submetido a processo de secagem  
15 (aspersão ou nebulização). Esse processo de secagem a partir de suspensão de nanopartículas poliméricas obtidas pelo processo aqui proposto pode servir como produto intermediário para a produção de comprimidos, cápsulas, grânulos entre outros.

A suspensão de nanopartículas resultante da presente invenção pode ser  
20 incluída no processo de produção de produtos farmacêuticos para carrear substâncias naturais, produtos oriundos da biotecnologia, terapia gênica, hormônios, vacinas, fragmentos de DNA, produtos transgênicos ou outros ativos além de fármacos e substâncias cosméticas.

Outra área em que o processo de obtenção de nanopartículas poliméricas  
25 pode ser incluído é a indústria têxtil, através da produção de líquidos ou pós a partir de nanopartículas poliméricas contendo substâncias de interesse do setor para impregnação em tecidos como substâncias amaciantes, perfumes, essências, entre outros.

Outro setor em que o presente invento pode ser incluído é a agricultura  
30 para o desenvolvimento de suspensões ou pós contendo nanopartículas

poliméricas capazes de carrear pesticidas, defensivos agrícolas, fertilizantes, produtos para correção do solo, entre outros.

O processo de obtenção de nanopartículas poliméricas pode ser utilizado no setor de alimentos para a produção de suspensões contendo nanopartículas capazes de carrear nutrientes (vitaminas e minerais) e óleos fixos ou essenciais que podem ser associados em produtos destinados à reposição nutricional pela via oral. Além disso, suplementos alimentares também podem ser produzidos através da secagem de suspensões contendo substâncias de interesse do setor.

### **Descrição das Figuras**

**Figura 1** - Processo de obtenção de nanopartículas poliméricas pelo método de polimerização em emulsão:

1a) Adição do monômero da fase aquosa ácida sob agitação

1b) Neutralização e filtração da suspensão

**Figura 2** - Processo de obtenção de nanopartículas poliméricas pelo método da nanoprecipitação:

2a) Preparação das fases orgânica e aquosa

i. dispersão dos componentes sob agitação magnética

2b) Injeção da fase orgânica na fase aquosa

i. estruturação das nanopartículas poliméricas sob agitação magnética

2c) Remoção do solvente à pressão reduzida

i. remoção do solvente orgânico e concentração da suspensão de nanopartículas poliméricas

**Figura 3** - Processo de obtenção de nanopartículas poliméricas através do método da emulsificação-difusão:

a) Preparação das fases orgânica e aquosa

i. saturação das fases

ii. separação dos líquidos

iii. preparação das fases orgânicas e aquosa

b) Emulsificação

i. emulsificação das fases através de dispersor de alto rendimento

- c) Processo de diluição
  - i. adição de água ao sistema
  - ii. estruturação das nanopartículas poliméricas
- d) Remoção do solvente orgânico à pressão reduzida

5 i. remoção do solvente orgânico e concentração da suspensão de nanopartículas

**Figura 4** - Processo de obtenção de nanopartículas lipídicas:

- a) Preparação das fases orgânica (lipídica) e aquosa
  - i. fusão do(s) lipídio(s) sólido(s)
  - ii. dispersão de agente tensoativo na fase aquosa
- b) Emulsificação das fases com dispersor de alto rendimento e formação das nanopartículas lipídicas
- c) Processo de homogeneização da emulsão através de homogeneização à alta-pressão

10  
15 **Figura 5** - Processo de obtenção de suspensão de nanopartículas poliméricas via homogeneização à alta pressão:

- a) Preparação das fases orgânica e aquosa:
  - i. saturação das fases
  - ii. separação dos líquidos
  - iii. preparação das fases orgânicas e aquosas
- b) Formação da emulsão primária:
  - i. emulsificação das fases através de agitação mecânica
  - ii. obtenção de partículas de tamanho micrométrico
- c) Processo de homogeneização à alta-pressão:
  - i. homogeneização da emulsão primária por 1 ciclo a 300 bar de pressão
  - ii. obtenção de partículas de tamanho na faixa nanométrica
- d) Processo de diluição:
  - i. adição de água ao sistema
  - ii. estruturação das nanopartículas poliméricas
  - iii. manutenção do tamanho nanométrico das partículas

20  
25  
30

e) Remoção do solvente orgânico à pressão reduzida

i. remoção do solvente orgânico e concentração da suspensão de nanopartículas

**Figura 6** - Distribuição granulométrica da emulsão primária (n = 3)

5 **Figura 7** - Distribuição granulométrica da emulsão primária após o processo de homogeneização à alta pressão (n = 3)

**Figura 8** - Distribuição granulométrica após etapa de diluição (n = 3)

**Figura 9** - Distribuição granulométrica após etapa de remoção do solvente orgânico e parte da água (n = 3)

10 **Figura 10** - Distribuição granulométrica de nanopartículas poliméricas pelo método de nanoprecipitação (n = 3)

### **Descrição Detalhada da Invenção**

15 O processo de obtenção de suspensão de nanopartículas poliméricas utilizando homogeneização parte de duas soluções (orgânica e aquosa), empregando uma etapa de emulsificação e outra de diluição (Figura 5). O processo utiliza água e um solvente orgânico parcialmente miscível em água, mutuamente saturados, a fim de garantir equilíbrio termodinâmico entre ambos  
20 os líquidos; porém, a saturação deve ser realizada com antecedência.

Os solventes orgânicos parcialmente miscíveis em água que podem ser utilizados em combinação ou de forma exclusiva podem ser, por exemplo, acetato de etila, álcool benzílico ou diclorometano. Para a preparação da fase orgânica, o(s) solvente(s) orgânico(s) parcialmente miscível (eis) escolhido (s)  
25 deve estar saturado em água na proporção 2:1, v/v em um funil de separação por até 24 horas. Após esse período, procede-se a separação dos líquidos, onde a fase orgânica é preparada contendo o solvente orgânico saturado (50 mL), um material de natureza polimérica e um tipo de óleo.

Exemplos de polímero a serem utilizados incluem, mas não se limitam à  
30 natureza do material, podendo este ser sintético, semissintético ou natural, biodegradável ou biocompatível: [poli( $\epsilon$ -caprolactona)] (PCL) e seus derivados, ácido polilático (PLA) e seus derivados, ácido polilático-co-glicólico (PLGA) e

seus derivados, poliglicolato (PGA) e seus derivados, derivados do polimetacrilato (tais como Eudragit RS100, Eudragit LS100-55, Eudragit E), polissacarídeos como quitosana e derivados da celulose, que podem ser utilizados separadamente ou em combinação, na faixa de concentração entre  
5 0,0001% até 30% m/v. A escolha do(s) polímero(s) não se limita ao uso desses, podendo ser utilizado qualquer outro material polimérico, desde que o(s) mesmo (s) sejam capazes de serem dispersos ou solúveis nos solventes orgânicos anteriormente citados.

Juntamente com a fase orgânica, deve ser utilizado um tipo de óleo,  
10 incluindo óleos de natureza sintética, vegetal ou mineral, podendo ser utilizados separadamente ou combinações dos mesmos. Exemplos de óleos de origem sintética incluem triglicerídeos de cadeia média, triacilgliceróis e seus derivados e ésteres de ácidos graxos. Exemplos de óleos de origem mineral são alifáticos (saturados ou não) aromáticos, cíclicos ou acíclicos. Com relação aos óleos de  
15 origem vegetal, podem ser utilizados óleo de soja, óleo de arroz, óleo de girassol, óleo de semente de uva, óleo de amêndoas doce, óleo de milho, óleo de coco, bem como óleos essenciais. A concentração do tipo de óleo a ser utilizado é compreendida pela faixa de 0,0001% até 30% (v/v). Em seguida, a fase orgânica é submetida à agitação magnética de 1 até 100 RPM e  
20 aquecimento, compreendendo a faixa de 25 até 50°C para a completa dispersão dos componentes.

Além disso, há a possibilidade de se adicionar fármacos e outras substâncias ativas de interesse a fim de que tais substâncias sejam nanoencapsuladas por tais nanopartículas poliméricas. No entanto, tais  
25 substâncias devem ser adicionadas durante o preparo da fase orgânica. Fármacos anti-inflamatórios (esteróides ou não-esteróides), antioxidantes e vitaminas, podem ser utilizados separadamente ou em combinação em uma faixa de 0,001% a 50% (m/v). Fármacos anti-inflamatórios não-esteróides pertencentes às seguintes classes podem ser utilizados: derivados arilo-  
30 acéticos (tais como aceclofenaco, diclofenaco, etodolaco, fentiazaco, ceterolaco), oxicans e pirazolonas (droxicam, meloxicam, piroxicam,

oxaprocina, fenilbutazona, metamizol, feprazona), derivados do aril propiônicos (fenoprofeno, ibuprofeno, cetoprofeno), fenamatos (ácido mefenâmico, ácido tolfenâmico), coxibes (celecoxibe, rofecoxibe, valdecoxibe) e outros. Exemplos de fármacos anti-inflamatórios esteróides, porém não se limitando a tais, são: corticosterona, dexametasona, deflazacorte, betametasona, propionato de clobetasol, prednisona, metilprednisolona, budesonida e beclometasona. Exemplos de antioxidantes incluem, mas não se limitam à vitamina A, vitamina E, isoflavona, butil hidroxil tolueno (BHT). Exemplos de vitaminas incluem, mas não se limitam a vitaminas A, B, D, E e K.

Fármacos citostáticos (antineoplásicos) e hormônios também podem ser empregados, dentro de uma faixa de 0,001% a 50% (m/v), independente da natureza sintética ou natural. Exemplos de antineoplásicos naturais são derivados da vinca (vincristina, vimblastina), taxanas (paclitaxel, docetaxel), análogos da campotecina (irinotecam, topotecam), modificadores da resposta imunológica (interferon alfa, interleucina 2), antibióticos (doxorubicina, mitomicina, epirubicina). Ainda incluem-se agentes alquilantes (melfalam, ifosfamida), antimetabólicos (metotrexato, 5-fluoracil), e outros como derivados do complexo da platina (cisplatina, carboplatina). Tais fármacos dentro desta classe não se limitam a esses citados, bem como podendo ser utilizados separadamente ou em combinação.

Fármacos e outras substâncias de uso dermatológico ou cosmético, também podem ser utilizados, sejam eles de natureza sintética ou natural, dentro de uma faixa de 0,001% a 50% (m/v). Exemplos que incluem, mas não excluem à: peróxido de benzoíla, enxofre, taninos, ácido naftoico, sulfetos de selênio, benzoato de sódio, isotretinoína, rutina, resveratrol, quercetina, miricetina, além de hormônios como melatonina, isoflavonas, flavonas, flavonóis e outros derivados da soja.

Paralelamente, a solução aquosa é preparada utilizando água saturada com o solvente orgânico (200 mL) e um tensoativo incluindo, mas não limitando ao uso de: polissorbato 20 (Tween 20), polissorbato 40 (Tween 40), polissorbato 60 (Tween 60), polissorbato 80 (Tween 80), poloxamer (Pluronic

F68), derivados do polietilenoglicol (Steareth 20 e 21) derivados do polioxietileno laurel eter (Brij 30, 35 e 72), lauril sulfato de sódio, derivados do monoesterato de sorbitano 20, (Span 20), monoesterato de sorbitano 60 (Span 60) e monoesterato de sorbitano 80 (Span 80), lecitinas (Lipoid S75, S80 e S100, Epikuron 170, 200), macrogol (Labrasol). Tais tensoativos podem ser utilizados na faixa de concentração compreendida entre 0,0001% até 30% (m/v), podendo estar presentes separadamente ou em combinação. A fase aquosa também deve ser submetida à agitação mecânica para a dispersão do tensoativo. Com o auxílio de um agitador mecânico operando na faixa de frequência de 50 a 1500 Hz por 10 a 30 minutos, procede-se a emulsificação das fases orgânica e aquosa de maneira contínua (*one shot*), resultando em uma emulsão primária. Nessa etapa do processo são formadas gotículas de solvente orgânico contendo o polímero e óleo solúveis no seu interior estabilizadas pelo tensoativo. A análise de diâmetro das gotículas da emulsão primária pode ser realizada por difração de laser através do equipamento Mastersizer 2000<sup>®</sup> (Malvern, UK), cujo resultado revela distribuição de tamanho de gotícula na faixa micrométrica. Em seguida a emulsão primária deve ser submetida a um homogeneizador à alta pressão, podendo operar na faixa de pressão de 50 à 10.000 bar de 1 até 20 ciclos.

A etapa de diluição da emulsão primária se dá através da adição de um volume de água de 100 a 1000 mL com o auxílio de um agitador mecânico que pode operar entre 50 e 1500 Hz por até 10 minutos. Esse processo é necessário para gerar um desequilíbrio termodinâmico entre os solventes, proporcionando a sua migração para o meio aquoso e, conseqüentemente a precipitação do polímero em torno das gotículas, estruturando as nanopartículas poliméricas. O solvente orgânico e parte da água são removidos à pressão reduzida em evaporador rotatório a 40°C, até o volume final de 50 mL. A análise de diâmetro médio das partículas da suspensão final deve ser realizada para confirmar a obtenção de nanocápsulas poliméricas de tamanho adequado para caracterização como nanomaterial. Além disso, a caracterização físico-química complementar realizada através de análises de

tamanho de partícula por espalhamento de luz dinâmico (Zetasizer, Nanoseries<sup>®</sup>), microscopia eletrônica de transmissão (Jeol, JEM 1200 ExII, Japan) e Nanosight<sup>®</sup> confirma esses resultados. As substâncias a serem encapsuladas devem ser adicionadas à fase orgânica ou aquosa, previamente à homogeneização, ou então ao final do processo.

### Exemplos

#### **Exemplo 1.**

Em um primeiro ensaio, água e acetato de etila foram previamente saturados (proporção 2:1, v/v) em um funil de separação por 24 horas. A fase orgânica foi composta por polímero [poli( $\epsilon$ -caprolactona)] na concentração de 1% m/v (0,5 g) e 3,0 % m/v (1500 mg) de óleo de arroz refinado em 50 mL de acetato de etila saturado em água. Essa fase foi submetida à agitação magnética a 100 RPM e aquecimento de até 40°C até a completa solubilização dos componentes. Paralelamente, a fase aquosa foi preparada contendo 200 mL de água saturada em acetato de etila contendo 0,76% m/v (0,383 g) de tensoativo hidrofílico não-iônico (polissorbato 80). Essa fase também foi submetida à agitação magnética para completa dispersão do tensoativo, porém sem aquecimento. As fases foram emulsificadas utilizando Ultraturrax<sup>®</sup> a 14000 g por 10 minutos; após, foi adicionado ao sistema água (fase de diluição) a fim de ocasionar o desequilíbrio termodinâmico entre as fases saturadas e assim promover a migração do solvente orgânico para a o meio externo, formando as nanopartículas. O solvente orgânico e parte da água foram removidos à pressão reduzida na temperatura de 40°C, utilizando evaporador rotatório. A partir desse ensaio, procederam-se modificações nas quantidades das matérias primas bem como no processo de emulsificação das fases, até que as faixas ideais de operação do invento fossem alcançadas.

#### **Exemplo 2.**

Em um segundo ensaio, a fase orgânica foi composta por polímero poli( $\epsilon$ -caprolactona) na concentração de 1% m/v (0,5 g), 1.5% m/v (750 mg) de óleo de arroz refinado e 0,76% m/v (383 mg) de um tensoativo de baixo EHL (monooleato de sorbitano 80) em 50 mL de acetato de etila saturado em água.

Essa fase foi submetida à agitação magnética a 100 RPM e aquecimento de até 40°C até a completa solubilização dos componentes. Paralelamente, a fase aquosa foi preparada contendo 200 mL de água saturada em acetato de etila contendo 0,76% m/v (383 mg) de tensoativo hidrofílico não-iônico (polissorbato 80). Essa fase também foi submetida à agitação magnética a 100 RPM para completa dispersão do tensoativo, porém sem aquecimento. As fases foram emulsionadas utilizando um agitador mecânico a 600 Hz por 10 minutos, resultando em uma emulsão primária. A análise de diâmetro das gotículas da emulsão primária foi realizada por difração de laser através do equipamento Mastersizer 2000® (Malvern, UK), cujo resultado revelou distribuição de tamanho de gotícula na faixa micrométrica. Essa emulsão primária foi submetida a um homogeneizador a alta pressão a 300 bar por um ciclo. Análise de diâmetro de partícula da emulsão obtida pelo homogeneizador revelou tamanho de gotícula nanométrico; porém, um segundo ciclo de homogeneização nas mesmas condições de pressão ocasionou o surgimento de uma população de ordem micrométrica, conforme análises de tamanho por difração a laser.

### **Exemplo 3.**

Em um terceiro ensaio, a fase orgânica foi composta por polímero poli( $\epsilon$ -caprolactona) na concentração de 1% m/v (0,5 g), 1.5% m/v (750 mg) de óleo de arroz refinado e 0,76% m/v (383 mg) de um tensoativo de baixo EHL (monooleato de sorbitano 80) em 50 mL de acetato de etila saturado em água. Essa fase foi submetida à agitação magnética a 100 RPM e aquecimento de até 40°C até a completa solubilização dos componentes. A fase aquosa foi composta por 1.5% m/v (750 mg) de um tensoativo hidrofílico não-iônico (polissorbato 80) e submetida à agitação magnética a 100 RPM sem aquecimento. As fases foram emulsionadas utilizando um agitador mecânico a 600 Hz por 10 minutos, resultando em uma emulsão primária. Após esse período, a emulsão primária foi submetida a um homogeneizador a alta pressão por um ciclo a 300 bar, cujo processo resultou em uma emulsão com tamanho de partícula de ordem nanométrica. Com ajuda de um agitador

mecânico, a etapa de diluição foi realizada através da adição de 200 mL de água ao sistema a 600 Hz por 10 minutos e, na sequência, o solvente orgânico (acetato de etila) e parte da água foram removidos através de um evaporador rotatório a 40°C até um volume final de 50 mL. Porém, através da análise de  
5 distribuição de tamanho de partícula, essa formulação revelou uma pequena população micrométrica.

#### **Exemplo 4.**

Em um quarto ensaio a fase orgânica foi composta por polímero poli( $\epsilon$ -caprolactona) na concentração de 1% m/v (0,5 g), 1.6% m/v (800 mg) de óleo  
10 de arroz refinado em 50 mL de acetato de etila saturado em água. Essa fase foi submetida à agitação magnética a 100 RPM e aquecimento de até 40°C até a completa solubilização dos componentes. A fase aquosa foi composta por 1% m/v (0,5 g) de um tensoativo hidrofílico não-iônico (polissorbato 80) e submetida à agitação magnética a 100 RPM sem aquecimento. Procedeu-se a  
15 emulsificação das fases utilizando um agitador mecânico a 600 Hz por 10 minutos, resultando em uma emulsão primária. Segundo análises de tamanho por difração a laser, a emulsão primária apresentou distribuição e tamanho de gotícula dentro da faixa micrométrica (Figura 6). Essa emulsão primária foi submetida a um homogeneizador a alta pressão por um ciclo a 300 bar,  
20 resultando em uma emulsão agora com a distribuição e tamanho de partícula dentro da faixa nanométrica (Figura 7). Na sequência a etapa de diluição foi realizada adicionando-se ao sistema 200 mL de água de modo contínuo com a ajuda de um agitador mecânico a 600 Hz por 10 minutos, de modo que essa etapa do processo não altera o perfil de distribuição das nanopartículas (Figura  
25 8). Após esse período, o solvente orgânico (acetato de etila) e parte da água foram removidos através de um evaporador rotatório a 40°C até que o volume de 50 mL fosse alcançado. A análise de distribuição e tamanho de partícula mostrou que o produto final (suspensão de nanopartículas poliméricas) obtido por esse processo apresenta uma única população de distribuição de partícula  
30 dentro da escala nanométrica (Figura 9). Essa distribuição de tamanho de partícula é mais estreita, demonstrando um maior controle sobre o tamanho de

partícula, se comparada com formulação de igual composição quali-quantitativa obtida pelo método de nanoprecipitação (Fessi, H.; Puisieux, F.; Devissaguet, J. P. Procédé de préparation des systèmes colloïdaux d'une substance sous forme de nanocapsules. European Patent, 0274961 A1, 1988) (Figura 10).

5 A Tabela 1 traz os dados de distribuição granulométrica por difração de laser da formulação desenvolvida pelo método da homogeneização a alta pressão. Os dados encontrados mostram que as formulações apresentam um Span, que é uma medida de amplitude da distribuição granulométrica, menor que 1,50, o que é altamente favorável para esse tipo de formulação. O valor de  
10  $d_{4,3}$ , que representa o diâmetro médio, em volume, das partículas da suspensão coloidal foi de  $119 \pm 0,1$  nm. Por outro lado, a mesma formulação preparada pelo método da nanoprecipitação apresentou  $d_{4,3}$  igual a  $243 \pm 24$  nm.

Tabela 1. Distribuição do tamanho de partícula correspondente a 10, 50 e 90%  
15 da população das partículas das formulações NCH-PCL-OA e NC-PCL-OA.

Etapas	Distribuição do tamanho de partícula			
	$d_{0,9}$ ( $\mu\text{m}$ )	$d_{0,5}$ ( $\mu\text{m}$ )	$d_{0,1}$ ( $\mu\text{m}$ )	SPAN
Formação da emulsão primária	$8,497 \pm 1,60$	<b><math>4,822 \pm 0,85</math></b>	$2,591 \pm 0,32$	$1,210 \pm 0,05$
Processo de homogeneização	$0,154 \pm 0,08$	<b><math>0,109 \pm 0,04</math></b>	$0,074 \pm 0,02$	$0,830 \pm 0,00$
Diluição	$0,176 \pm 0,47$	<b><math>0,112 \pm 0,40</math></b>	$0,073 \pm 0,01$	$0,971 \pm 0,02$
Remoção do solvente	$0,180 \pm 0,05$	<b><math>0,114 \pm 0,00</math></b>	$0,075 \pm 0,50$	$0,900 \pm 0,09$

Ainda, alguns ajustes foram realizados nessa formulação a fim de consolidar as faixas ideais de obtenção do processo de obtenção de suspensão de nanopartículas poliméricas. Em uma formulação onde as  
20 concentrações das matérias-primas e as condições de operação foram

mantidas, o volume de água utilizado na etapa de diluição foi alterado de 200 mL para 250 mL. Ao final do processo, observou-se que o tamanho e a distribuição do tamanho de partícula não foram alterados obtendo-se somente uma população nanométrica. Ainda, a etapa de diluição foi avaliada quanto à  
5 temperatura da água, onde um volume de 200 mL foi aquecido a 37°C. Novamente não houve alteração na formação ou no diâmetro das partículas, segundo análise através de difração a laser.

Outra formulação foi preparada com as mesmas concentrações de matérias-primas e condições de operação, porém aumentando a concentração  
10 de tensoativo não-iônico (polissorbato 80) de 1% m/v (0,5 g) para 4% m/v (2,0 g). Ao final do processo, observou-se que também é possível também obter partículas dentro da ordem nanométrica, porém com uma faixa de distribuição mais estreita quando comparada com a formulação cuja concentração deste tensoativo é de 1% m/v. Por outro lado, a formulação contendo 1% m/v (0,5 g)  
15 de tensoativo pode ser submetida a um segundo ciclo a 300 bar, sem alteração do diâmetro de partícula da suspensão.

A formulação também foi avaliada quanto ao tipo de óleo utilizado na composição da fase orgânica, através do uso de dois óleos sintéticos. O óleo de arroz refinado foi substituído pelo óleo de silicone na mesma concentração  
20 de 1,6 % m/v (800 mg) utilizada para compor a fase orgânica, sem alterar os outros parâmetros e condições de trabalho. Ao submeter à emulsão primária ao homogeneizador a alta pressão verificou-se a quebra da emulsão, constatando-se que esse óleo não pode ser utilizado no processo de obtenção de nanopartículas poliméricas por esse processo. Por outro lado, outro óleo  
25 sintético (triglicerídeos de cadeia média) também foi avaliado na concentração de 1,6 % m/v (800 mg) em substituição ao óleo de arroz refinado. O emprego desse óleo não ocasionou desestruturação da formulação durante as etapas do processo, sendo possível utilizá-lo para produzir suspensão de nanopartículas via homogeneizador à alta pressão. A confirmação do uso do óleo de  
30 triglicerídeos se deu através da análise de diâmetro de partícula da suspensão

final, cujo resultado mostrou uma população nanométrica com estreita faixa de distribuição.

Outro parâmetro avaliado foi a viabilidade de encapsular um fármaco modelo a fim de confirmar a aplicação das nanopartículas poliméricas obtidas nesse processo como potencial nanocarreador de substâncias ativas. Para tanto, o fármaco deflazacorte, escolhido para essa função, foi adicionado na fase orgânica (concentração de 0,1% m/v ou 0,05 g/mL), composta por acetato de etila, polímero e óleo. Através de análises quantitativas por cromatografia líquida de alta eficiência, as suspensões apresentaram resultados de teor e eficiência de encapsulação satisfatórios para confirmar as nanopartículas poliméricas obtidas por esse processo como potencial nanocarreador, considerando as características físico-químicas do fármaco.

Além disso, a suspensão de nanopartículas poliméricas obtida pelo processo foi submetida à secagem por aspersão, a fim de avaliar a viabilidade em se obter nanopartículas poliméricas na forma sólida (pó). Para tanto, foi adicionado na suspensão de nanopartículas um adjuvante de secagem (nesse caso lactose) na concentração de 10% (5,0 g) e submetida à agitação magnética por 10 minutos. Após esse período a suspensão foi submetida a um equipamento de secagem por aspersão (Mini Spray-Dryer B-190, Büchi) na temperatura de 120°C e fluxo de 0,15%. No final do processo as partículas sólidas produzidas foram recolhidas e acondicionadas em recipiente adequado protegido da umidade, cujo rendimento foi em torno de 72%. O pó obtido pelo processo foi submetido à análise de diâmetro de partícula por difração a laser por via úmida. O resultado da análise apresentou uma população dentro da faixa nanométrica, demonstrando a possibilidade de recuperação das nanopartículas poliméricas obtidas via homogeneização à alta pressão.



Figura 4a



Figura 4b

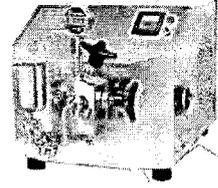
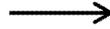


Figura 4c

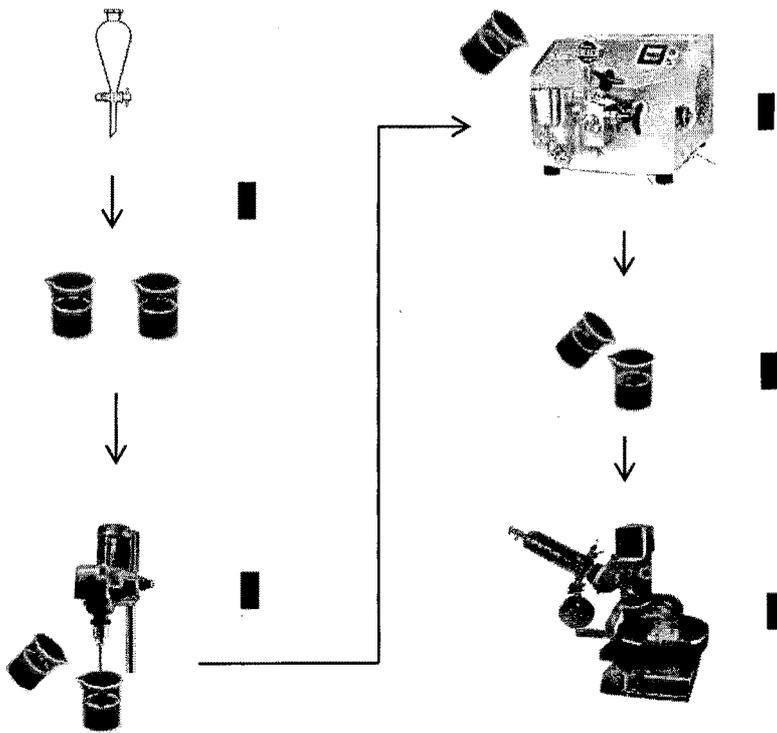


Figura 5

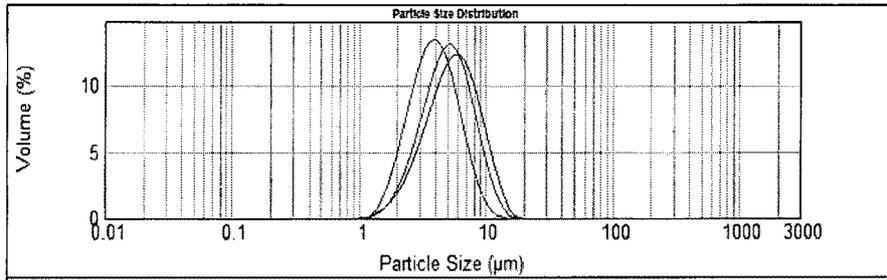


Figura 6

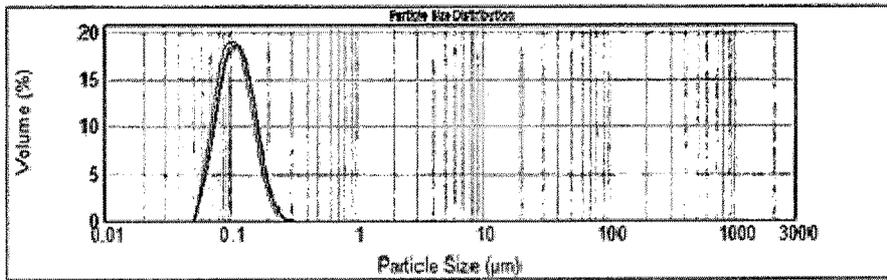


Figura 7

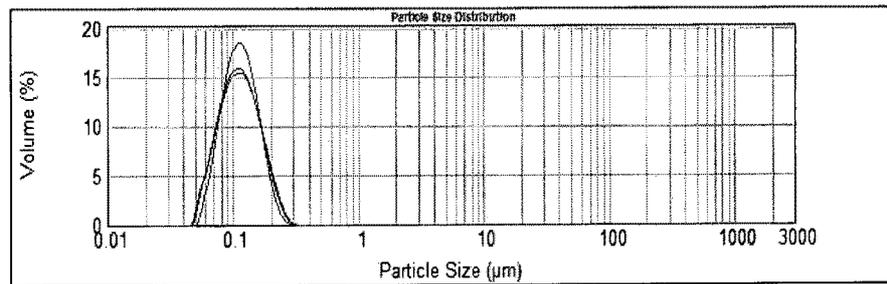


Figura 8

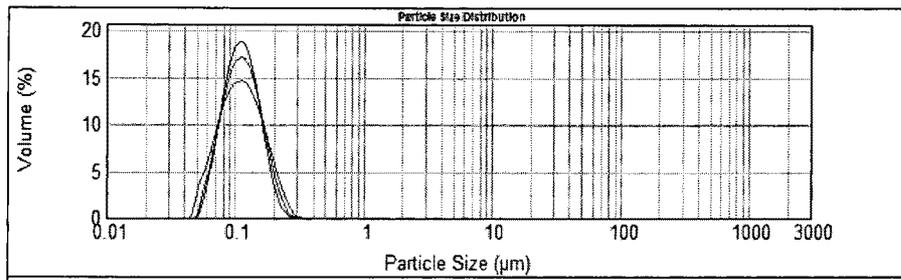


Figura 9

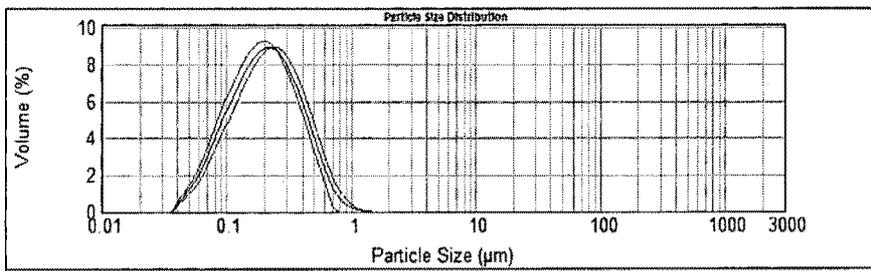


Figura 10

### Reivindicações

- 1) PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO  
HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO **caracterizado por** uma solução (a)  
5 orgânica parcialmente solúvel em água e outra (b) aquosa, ambas  
saturadas, empregando uma etapa de emulsificação e outra de diluição.
- 2) PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO  
HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO de acordo com a reivindicação 1  
**caracterizado pela** saturação dos solventes ocorrer na proporção de  
10 2:1 em um funil de separação por até 24 horas seguida da separação  
dos líquidos.
- 3) PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO  
HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO de acordo com as reivindicações 1-2  
**caracterizado pela** fase orgânica ser preparada com polímero [poli( $\epsilon$ -  
15 caprolactona)] ou derivado do polimetacrilato (Eudragit RS100<sup>®</sup>),  
poli(ácido lático), poli(ácido lático-co-glicólico), poli(ácido glicólico), e  
derivados destes, utilizados separadamente ou em qualquer combinação  
na faixa de concentração de 0,0001% a 30% m/v e óleo vegetal, mineral  
ou sintético utilizados separadamente ou em qualquer combinação na  
20 faixa de concentração de 0,0001% a 30% m/v.
- 4) PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO  
HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO, de acordo com as reivindicações 1-

3, **caracterizado pela** fase orgânica ser submetida à agitação magnética de 1 a 100 RPM e aquecimento de 25 a 40°C.

5) PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO de acordo com as reivindicações 1- 4, **caracterizado pela** fase aquosa ser preparada com um tensoativo hidrofílico não-iônico, iônico ou anfótero na concentração de 0,0001 a 30% (v/v), sendo essa também submetida à agitação mecânica sem necessidade aquecimento.

6) PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO de acordo com as reivindicações 1- 5, **caracterizado pela** etapa de emulsificação das fases orgânica e aquosa ocorrer com auxílio de agitador mecânico de 50 a 1500 Hz de 10 a 30 minutos seguida de uma etapa de homogeneização em um homogeneizador à alta pressão de 50 a 5000 bar por até 10 ciclos.

7) PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO de acordo com as reivindicações 1- 6, **caracterizado pela** etapa de diluição da emulsão primária ocorrer pela adição de 200 mL de água a 600 Hz por 10 minutos.

8) PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO de acordo com as reivindicações 1-7, **caracterizado pela** remoção do solvente orgânico à pressão reduzida.

9) PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO de acordo com as reivindicações 1- 8,

**caracterizado pelas** substâncias a serem encapsuladas serem adicionadas à fase orgânica ou aquosa, previamente à homogeneização, ou então ao final do processo.

10) PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO

5 HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO de acordo com a reivindicação 9, **caracterizado pelas** substâncias a serem encapsuladas compreenderem os grupos de: fármacos anti-inflamatórios, antioxidantes, vitaminas, citostáticos, hormônios, modificadores da resposta imunológica, antibióticos, antimetabólicos, outras substâncias  
10 de uso dermatológico ou cosmético, mas não limitados a esses.

**Figuras**



Figura 1a



Figura 1b



Figura 2a



Figura 2b



Figura 2c

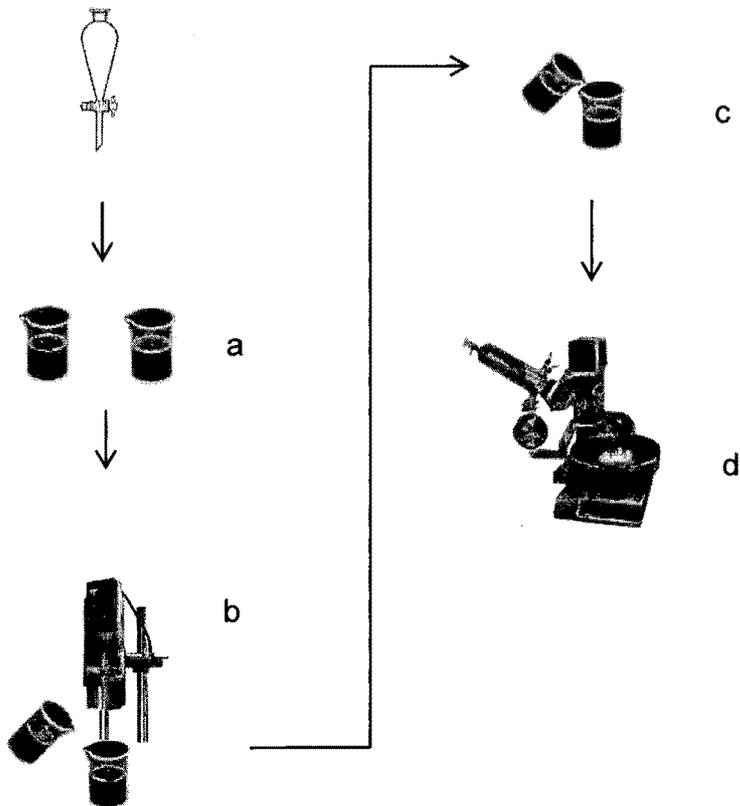


Figura 3

**Resumo****PROCESSO DE OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS UTILIZANDO  
HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO**

5

A presente invenção descreve um processo de obtenção de nanopartículas poliméricas utilizando homogeneização à alta pressão, cujas partículas são capazes de carrear fármacos e outras substâncias ativas, incluindo ativos de uso cosmético e substâncias naturais (modificadas ou não), sintéticas e semissintéticas. O processo de obtenção de nanopartículas apresenta potencialidades de aplicação em diversas áreas como farmacêutica, cosmética, indústria química, têxtil, alimentícia, agricultura, entre outras.

10