

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

**(21) PI 1103229-4 A2**



\* B R P I 1 1 0 3 2 2 9 A 2 \*

(22) Data de Depósito: 18/07/2011  
(43) Data da Publicação: 24/12/2013  
(RPI 2242)

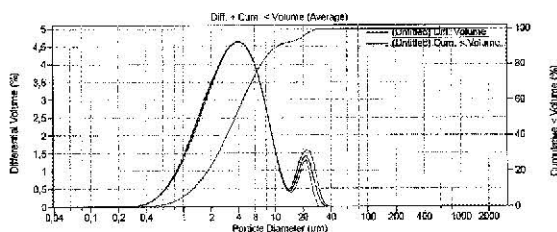
(51) Int.Cl.:  
A61K 9/16  
A61K 31/7048  
A61P 33/02

**(54) Título:** COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS MICROPARTICULADAS CONTENDO ANTIPARASITÁRIOS PARA TERAPIA SUBCUTÂNEA PROLONGADA, USO DAS DITAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA A PRODUÇÃO DE UM MEDICAMENTO E MÉTODO DE TRATAMENTO DE PARASIToses

**(73) Titular(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

**(72) Inventor(es):** Bartira Rossi Bergmann, Camila Alves Bandeira Falcão, Wallace Pacienza Lima

**(57) Resumo:** "COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS MICROPARTICULADAS CONTENDO ANTIPARASITÁRIOS PARA TERAPIA SUBCUTÂNEA PROLONGADA, USO DAS DITAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA A PRODUÇÃO DE UM MEDICAMENTO E MÉTODO DE TRATAMENTO DE PARASIToses". A inovação ora proposta se refere a uma composição farmacêutica contendo Anfotericina B, chalcona nitrada (CH8) ou Glucantime encapsulados em micropartículas de polímeros biodegradáveis de liberação lenta, ao processo de encapsulamento do fármaco no interior das partículas; ao uso destas composições farmacêuticas, a um medicamento e ao tratamento de parasitoses.



**COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS MICROPARTICULADAS CONTENDO ANTIPARASITÁRIOS PARA TERAPIA SUBCUTÂNEA PROLONGADA, USO DAS DITAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA A PRODUÇÃO DE UM MEDICAMENTO E MÉTODO DE TRATAMENTO DE PARASIToses**

5

**CAMPO DA INVENÇÃO**

A invenção se refere a uma composição farmacêutica contendo anfotericina B ou compostos antimoniais tais como, antimoniato de meglumina, estibogluconato de sódio e tartarato de potássio e antimônio (III) hidratado ( $Sb^{III}$ ), ou ainda uma chalcona nitrada, que nesse caso seria a 3-nitro-2-hidroxi-4,6-dimetoxichalconas que resolvemos denominá-la de CH8. Essas chalconas nitradas(CH8) encapsulados em partículas de polímeros biodegradáveis de liberação lenta. Esta invenção também se refere ao uso destas composições farmacêuticas, a um medicamento e ao tratamento de parasitoses.

10

**ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

15

As doenças parasitárias, entre elas a malária, as leishmanioses, as tripanossomes, além de outras, são consideradas um dos grandes problemas de saúde pública no mundo. Estas doenças, porém, se concentram nos países que apresentam populações de baixa renda, como por exemplo, países da África, Ásia e América do Sul. Isso ocorre em grande parte devido à falta de políticas públicas na área de saúde e saneamento básico, esses países possuem os maiores números de casos e mortes por essas parasitoses.

20

Negligenciadas pelo setor privado, o controle dessas endemias depende, quase que exclusivamente, de iniciativas governamentais (universidades, institutos de pesquisa e laboratórios oficiais), havendo uma grande carência de alternativas para o tratamento quimioterápico. A abordagem terapêutica para estas parasitoses é complicada pelo aparecimento de resistência, tal qual mencionado para os agentes anticancerígenos, havendo também nestes casos a necessidade um esforço contínuo visando o desenvolvimento de novos fármacos.

25

A leishmaniose é um complexo de doenças causadas por várias espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, que podem causar no homem e em outros vertebrados um espectro de formas clínicas. Essas podem ser classificadas em forma Tegumentar, que inclui as formas cutânea simples, difusa e mucocutânea, frequentemente desfigurantes, e forma Visceral muitas vezes letal. Estima-se que haja no mundo 12 milhões de pessoas infectadas, e uma incidência anual de 0,5 milhão de casos da forma visceral e 1,5 a 2 milhões de casos da forma tegumentar (WHO, 2004). A Leishmaniose Visceral foi recentemente priorizada pela Organização Mundial de Saúde, junto com a dengue e a tripanossomíase africana, como doenças tropicais de categoria 1 (reemergentes e/ou fora de controle) (REMME *et al.*, 2002). O Brasil ocupa posição ímpar, pois é endêmico para ambas as formas Tegumentar (simples, mucocutânea e difusa) e Visceral, com uma média anual de 30 mil e 4mil casos notificados, respectivamente, e grau de letalidade para esta última de 8,5%. Aqui, a maioria dos casos ocorre nas regiões Norte e Nordeste, com crescimento recente de casos nas regiões Centro- Oeste, Sudeste e DF (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006 e 2007a e b). A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), como são coletivamente chamadas as diferentes formas de leishmanioses tegumentares da América Latina, são causadas por espécies do parasito diferentes das que ocorrem no Velho Mundo. Mais de 80% dos casos são causados pela *Leishmania (V) braziliensis*, seguida da *Leishmania (V.) guyanensis* e *Leishmania (L.) amazonensis* (MINISTÉRIO DA SAÚDE 2007a). O parasito existe como promastigota flagelado no vetor flebotomíneo, e como amastigota aflagelado dentro de fagócitos mononucleares do hospedeiro vertebrado. A localização intracelular privilegiada dificulta o acesso de fármacos ativos, o que torna esta doença de difícil tratamento.

A terapia de pacientes com leishmaniose ainda se baseia no uso de antimoniais pentavalentes. Os sais antimoniais são obtidos sinteticamente a partir do ácido antimônico e da N-metil-glucamina. A administração

intramuscular ou endovenosa do antimoniato é rapidamente absorvida, de forma que após 48 horas 90% da dose inicial já foi excretada pelos rins. Faz-se necessário, altas doses repetidas para manter o nível terapêutico do antimônio nos tecidos. Com isso, surge uma diversidade de efeitos colaterais como

5 mialgia, pancreatite, pancitopenia, hepato e cardiotoxicidade. A pancreatite parece ser a causa frequente de náuseas e dores abdominais (GASSER *et al*, 1994).

A intolerância ou refratariedade do paciente ao tratamento com antimoniais levam ao uso da pentamidina ou da anfotericina B como drogas de

10 segunda escolha, ambas também administradas por via intramuscular ou endovenosa. A pentamidina tem eficácia semelhante aos antimoniais (TUON *et al* 2008), mas produz outros efeitos colaterais como hipoglicemia, diabetes, taquicardia, hipotensão, nefrotoxicidade e dores locais na administração na dose de 4mg/kg.dia alternados, durante 30 dias pela via intramuscular. A anfotericina

15 B é um antibiótico poliênico isolado da bactéria *Streptomyces sp*, usado inicialmente como fármaco antifúngico, especialmente em infecções sistêmicas. É indicada como tratamento alternativo para a leishmaniose visceral e mucocutânea, é considerada a droga que apresenta falha terapêutica mais baixa, sendo que, em regiões refratárias aos antimoniais, como na Índia, já é

20 tida como medicamento de primeira linha. A dose recomendada é de 0,75-1mg/kg.dia por 20 dias, administrados através de infusões endovenosas lentas em geral com internação do paciente (BERN *et al.*, 2006). A Anfotericina B, também é indicada para o tratamento de pacientes imunocomprometidos, como

25 pacientes HIV positivos, que embora seja mais ativa que os antimoniais, produz graves efeitos colaterais. Esses efeitos são explicados por sua afinidade também pelo colesterol na membrana da célula humana, mesmo que em menor extensão que ao ergosterol e por sua insolubilidade. Os principais efeitos relatados são hipocalcemia, cardio e nefrotoxicidade (CROFT & COOMBS,

2003). Algumas alternativas de tratamento estão sendo estudadas, como modificações na dose e duração. Uma alternativa com grande potencial de aplicação seria usar, os sistemas de carreamento e liberação de fármacos, destacando-se como uma das áreas da indústria farmacêutica mais promissora, devido à possibilidade de resgatar drogas ativas que foram descartadas por sua toxidez ou baixa biodisponibilidade e o alto custo no descobrimento e desenvolvimento de novas moléculas ativas.

Os problemas mais comuns que costumam impedir a aprovação de fármacos potencialmente eficazes são sua rápida metabolização no organismo e os efeitos tóxicos decorrentes de sua baixa solubilidade plasmática e/ou sua ação indiscriminada sobre células saudáveis. Idealmente, um fármaco de efeito sistêmico deve permanecer na circulação o tempo necessário para seu efeito terapêutico, dentro de uma faixa segura de alta eficácia combinada à baixa toxidez, e um mínimo de doses repetitivas. Além de protegê-lo contra a degradação prematura e promover sua solubilização, o encapsulamento de um fármaco em micro e nanopartículas apropriadas pode ajudar a direcioná-lo para o seu tecido ou célula alvo. Os sistemas de liberação controlada de fármacos apresentam várias vantagens em relação aos sistemas convencionais, tais como: 1) Maior controle da liberação do princípio ativo, diminuindo o aparecimento de doses tóxicas e subterapêuticas; 2) Utilização de menor quantidade do princípio ativo; 3) Resultando em menor custo; 4) Maior intervalo de administração; melhor aceitação do tratamento pelo paciente e a possibilidade de direcionamento do princípio ativo para seu alvo específico.

Os primeiros a serem desenvolvidos, e únicos já aprovados para uso sistêmico endovenoso, são os lipossomas. A partir da década de 1980 vários polímeros biodegradáveis foram e estão sendo utilizados no preparo de micro e nanopartículas, incluindo os polímeros sintéticos poli-(lático-co-glicólico) (PLGA), além dos biopolímeros quitosana e polihidroxialcanoatos (PHA). De tamanho mais reduzido, na ordem de 1-10 nm, temos a

ciclodextrina; e mais recentemente os polímeros esféricos e ramificados, os dendrímeros, que estão sendo estudados quanto à sua viabilidade farmacêutica. Alguns destes sistemas já foram estudados para melhorar a solubilidade e/ou diminuir a toxidez dos antimoniais e da anfotericina B na leishmaniose (ROSSI-BERGMANN e FREZARD, 2007). Devido ao fato da *Leishmania* infectar quase que exclusivamente macrófagos, o uso de sistemas particulados constituiria uma excelente ferramenta para levar fármacos para a célula infectada, em contato íntimo com os parasitos, reduzindo sua toxidez para outras células e o aparecimento de efeitos colaterais. Além disso, limitações farmacocinéticas podem ser contornadas pela liberação lenta dos lipídeos ou polímeros biodegradáveis que constituem as partículas, reduzindo assim sua dosagem.

Os lipossomos foram as primeiras partículas delineadas para vetorização de drogas antileishmaniais. Hoje em dia, a única formulação comercialmente disponível e aprovada para o uso humano para o tratamento da leishmaniose é a Anfotericina B encapsulada em lipossomos unilamelares carregados negativamente (Ambisome®) (SUNDAR & RAI, 2002). Recentes estudos relacionados com a toxicidade e efetividade de formulações lipossomais de antimoniato de meglumina em cães com leishmaniose visceral demonstraram que a formulação reduziu significativamente a carga parasitária da medula óssea dos cães e não provocou mudanças significantes nas funções hepáticas e renais na dose (6.5 mg Sb/kg/dose) com quatro doses (4 dias de intervalos) (FRÉZARD, F. & MICHALICK, M. S. M, 2008).

A aplicação clínica de formulações de anfotericina B associada a lipídeos levou a uma melhora notável na quimioterapia de leishmaniose. Essas formulações associadas a lipídeos como o AmBisome®, encapsulada em lipossomos unilamelares, o Abelcet®, incorporada em complexo lipídico; e o Amphocil®, como uma suspensão coloidal em colesterol foram avaliadas em

testes clínicos para leishmaniose visceral e mucocutânea. Das três formulações, o AmBisome<sup>®</sup> demonstrou maior eficiência favorecendo sua aprovação pelo FDA (Food and Drug Administration). Os efeitos colaterais diminuíram principalmente a nefrotoxicidade, por diminuir sua eliminação renal, além de  
5 aumentar sua meia vida plasmática. Outra vantagem é a possibilidade de se administrar doses maiores do fármaco em menor espaço de tempo. Porém, o fator limitante do uso dessas formulações lipossomais é o alto da fosfatidilcolina, o que inviabiliza o acesso ao tratamento por grande parte da população afetada (GOLENSER *et al.* 1999).

10 Os sistemas poliméricos micro e nanopartículas poliméricas são sistemas carreadores de fármacos que incluem cápsulas e esferas. Sua maior vantagem em relação aos lipossomos é a maior estabilidade, podendo ser liofilizados para armazenagem. Fatores como tipo e proporção dos polímeros na  
15 formulação determinam características importantes como estabilidade e estrutura cristalina e biodegradabilidade, que influencia na velocidade de liberação do fármaco (SCHAFFAZICK & GUTERRES, 2003). O polímero de poli(lactídeo), ou PLA, é um dos mais estudados para aplicação biológica, por sua alta biodegradabilidade e biocompatibilidade, já tendo inclusive uso clínico  
20 aprovado na constituição de fios de suturas e próteses ortopédicas biodegradáveis. As nanoesferas de PLA já foram também testadas com certo sucesso como carreadoras de vários antileishmaniasis, como a primaquina, pentamidina, bacopasaponina e atovaquona, para o tratamento experimental da leishmaniose visceral por via endovenosa. Na leishmaniose cutânea, As nanopartículas de PLA de 200 nm foram testadas com sucesso pelo nosso  
25 grupo, na veiculação da chalcona nitrada(CH8) DMC para o tratamento subcutâneo de camundongos infectados com *L. amazonensis* (TORRES-SANTOS *et al.*, 1999).

Os primeiros registros do uso de partículas poliméricas para veiculação de antileishmaniasis datam de 1987, quando micropartículas de

poliacrilamida com diâmetro superior a 1µm foram utilizadas para complexação do antimonial pentavalente estibogluconato de sódio (DHANARAJUA, M. D. *et al.*, 2006; ESPUELAS, M. S. *et al.*, 2002). Como mencionado acima, por seu tamanho relativamente grande, as micropartículas não são indicadas para uso parenteral pelo risco de formação de êmbolos e trombos nos capilares sanguíneos, sendo seu uso terapêutico geralmente restrito às vias subcutânea, intramuscular, oral ou intranasal. Até hoje nenhuma formulação polimérica foi disponibilizada comercialmente para tratamento da leishmaniose humana. Além do PLA, o PLGA também é interessante como sistema de liberação controlada de drogas. Este polímero também já foi aprovado pelo FDA, como estruturas biodegradáveis usadas em parafusos e tachas ortopédicos, fios de sutura e sistemas de reparo de menisco e cartilagem (ELIAZ e KOST, 2000). Além disso, o PLGA é amplamente utilizado na medicina cosmética no preenchimento subcutâneo de rugas, com alto grau de aceitação pelos pacientes. Os medicamentos formulados em polímeros e aprovados para uso humano são todos dirigidos para o tratamento do câncer em microcápsulas poliméricas (> 1000 nm) e têm aplicação potencial nos casos em que interessa a formação de depósitos para liberação local lenta e contínua, como por exemplo, em vacinas ou tratamentos crônicos localizados.

O primeiro produto de PLGA aprovado pelo FDA foi o LupronDepot em 1996 (TAP Pharmaceutical Products Inc), micropartículas de 75:25 lactideo/glicolídeo contendo Leuprolide para o tratamento de câncer avançado de próstata . Administrado localmente, o LupronDepot forma um depósito e libera a droga gradualmente, podendo ser administrado em intervalos de até 4 meses, substituindo as injeções diárias de Leuprolide livre (KADA *et al.*, 1994). Micropartículas de PLGA já estão sendo testadas, em humanos, como sistemas de liberação de vacina. Trata-se de teste clínico está em andamento no Brasil em pacientes com câncer avançado de colo e pescoço, desenvolvida por SILVA, C. L e colaboradores.



Os primeiros registros do uso de partículas poliméricas para veiculação de antileishmaniais datam de 1987, quando micropartículas de poliacrilamida com diâmetro superior a 1µm foram utilizadas para complexação do antimonial pentavalente estibogluconato de sódio. Os trabalhos que se seguiram utilizaram primaquina e IFN-gama como ativos, também utilizando a via endovenosa em camundongos, e mostraram a sua potencialização e acúmulo principalmente no fígado (FORTINA, *et al.*, 2005; ITO, *et al.*, 2005).

O polímero de poli (lactídeo), ou PLA, é um dos mais estudados para o preparo de micropartículas para aplicação biológica, por sua alta biodegradabilidade e biocompatibilidade, já tendo inclusive uso clínico aprovado na constituição de fios de suturas biodegradáveis, assim como o PLGA, as nanoesferas de PLA já foram também testadas com certo sucesso como carreadoras de vários antileishmaniasis, como a primaquina, pentamidina, bacopasaponina e atovaquona, para o tratamento experimental da leishmaniose visceral por via endovenosa.

Pinero J. e colaboradores 2006, mostraram que implantes de filmes de PLA e PLGA veiculando uma trans-chalcona foram testadas em camundongos BALB/c infectados com *L. amazonensis* na pata. Nesta avaliação cada indivíduo recebeu um implante de 3 mm na orelha 5 semanas após a infecção. Os resultados mostraram que os camundongos implantados com a droga em PLA e PLGA induziram uma redução significativa no tamanho das lesões. Já os camundongos que receberam implantes de PLA vazias também apresentaram diminuição no tamanho da lesão devido aparentemente a uma atividade pro-inflamatória intrínseca do PLA que poderia estar ativando mecanismos antimicrobicidas dos macrófagos.

Assim, tendo em vista a biocompatibilidade comprovada do polímero de PLGA, inclusive na forma de micropartículas para injeção subcutânea em preenchimento cosméticos, neste estudo propomos avaliar o potencial das micropartículas de PLGA para melhoramento da eficácia do

tratamento da leishmaniose cutânea através da administração intralesional de compostos antimoniais, chalcona nitrada(CH8) e Anfotericina B. A terapêutica convencional baseada em séries de injeções intramusculares contribui de certa forma para o insucesso do tratamento, porque além da elevada toxicidade destes fármacos o regime terapêutico longo com múltiplas doses diminui a adesão de muitos pacientes. A administração intralesional de antimoniais vem sendo usada visando minimizar os efeitos colaterais sistêmicos e apresentam resultados satisfatórios, mas provoca dor no local de administração devido à necessidade de múltiplas injeções locais.

10

#### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Para melhor esclarecimento desta invenção, as chalconhas nitrogenadas que aqui nos referimos tratam-se da 3-nitro-2-hidroxi-4,6-dimetoxichalcona, que para facilitar iremos denomina-la de CH8.

15

O primeiro objetivo desta invenção trata de composições farmacêuticas contendo uma quantidade farmacêuticamente efetiva de medicamentos ou fármacos antileishmaniais encapsulados em partículas de PLGA.

20

O segundo objeto desta invenção trata do uso das composições farmacêuticas contendo uma quantidade farmacêuticamente efetiva de Anfotericina B, chalcona nitrada (CH8) ou compostos antimoniais, encapsulados em partículas de PLGA voltada para a produção de um medicamento para o tratamento subcutâneo de doenças cutâneas inflamatórias e infecciosas da pele ou em regiões da pele (derme, epiderme e anexos), tais como, leishmaniose, micoses, hanseníase, psoríases, úlcera tropical, verrugas, hemangioma cavernoso em animais mamíferos.

25

O terceiro objeto desta invenção é uma composição farmacêutica contendo uma quantidade terapêuticamente eficaz de Anfotericina B, chalcona nitrada (CH8) ou de compostos antimoniais encapsulados em partículas de PLGA, além de excipientes farmacêuticamente aceitáveis.

O último objeto desta invenção trata de método de tratamento de parasitoses que compreende a aplicação subcutânea de uma quantidade terapêuticamente efetiva de Anfotericina B, chalcona nitrada (CH8) ou compostos antimoniais, encapsulados em micropartículas de PLGA a um animal mamífero portador da leishmaniose.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Esta invenção trata de composições farmacêuticas compreendendo uma quantidade farmacêuticamente efetiva de medicamentos ou fármacos antileishmaniais encapsulados em partículas de PLGA, tendo como exemplos de fármacos como a Anfotericina B, chalcona nitrada(CH8) e compostos antimoniais. O agente ativo pode constituir cerca de 5 a 85% do peso da formulação. Concentração variada de compostos ativos pode possibilitar uma liberação inicial mais rápida no tecido após a administração local. Em uma variação exemplificativa como será mostrado a seguir, utilizamos 10% de Anfotericina B em relação ao polímero (p/p).

Exemplos de medicamentos ou fármacos utilizados são a Anfotericina B, chalcona nitrada(CH8) e compostos antimoniais tais como, antimoniato de meglumina, estibogluconato de sódio e tartarato de potássio e antimonio (III) hidratado (SbIII), combinados ou não.

Um processo de encapsulamento desses fármacos, Anfotericina B, chalcona nitrada(CH8) ou compostos antimoniais em partículas de PLGA de tamanhos variando entre 0,5 e 500µm. Em uma variação, copolímeros de ácido glicólico e lático são usados e o percentual de cada monômero de ácido poli (lático-co-glicólico) pode ser, cerca de 15-85%, cerca de 25-75%, cerca de 35-65%, ou a proporção de 50-50% podem ser empregadas.

O segundo objeto desta invenção trata do uso das composições farmacêuticas contendo uma quantidade farmacêuticamente efetiva de Anfotericina B ou compostos antimoniais, preferencialmente, Glucantime e

chalcona nitrada(CH8) encapsulados em partículas de PLGA voltada para a produção de um medicamento para o tratamento subcutâneo de doenças cutâneas inflamatórias e infecciosas da pele ou em regiões da pele (derme, epiderme e anexos), tais como leishmaniose, micoses, hanseníase, psoríases, 5  
ulcera tropical, verrugas, hemangioma cavernoso em animais mamíferos.

O terceiro objeto desta invenção é uma composição farmacêutica contendo uma quantidade terapeuticamente eficaz de Anfotericina B ou de compostos antimoniais como Glucantime e chalcona nitradas(CH8) encapsulados em partículas de PLGA, além de excipientes farmacologicamente 10  
aceitáveis.

O último objeto desta invenção trata de método de tratamento de parasitoses que compreende a aplicação subcutânea de uma quantidade terapeuticamente efetiva de Anfotericina B ou compostos antimoniais como Glucantime e chalcona nitradas(CH8) encapsulados em micropartículas de 15  
PLGA a um animal mamífero portador da leishmaniose.

#### **PROCESSO DE ENCAPSULAMENTO**

##### **PRODUÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS DE PLGA:**

As partículas PLGA contendo a Anfotericina B e os compostos antimoniais serão produzidos pelo método de emulsificação múltipla ( $A_1 / 0 / A_2$ ), 20  
seguida pelo método de evaporação de solvente. Inicialmente, o polímero (PLGA) será dissolvido em diclorometano (fase orgânica), a esta fase orgânica, será adicionado 1 ml de solução tampão pH 7,4 contendo os fármacos (10% em relação ao polímero (p/p)), e a mistura das fases será promovida sob ultra agitação de 7000rpm durante 30 segundos, para a formação de uma emulsão 25  
simples ( $A_1 / 0$ ). Essa emulsão simples será dispersa na fase contínua ( $A_2$ ) sob ultra-homogeneização de 7000rpm por 60 segundos, uma solução aquosa de 3% de ácido polivinílico (PVA) será adicionada ao sistema e a evaporação do solvente será sob agitação de 400 rpm durante 4 horas. Na etapa final, a suspensão de micropartículas será centrifugada a 4000 rpm durante 5 minutos,

lavada com água destilada 3 vezes e congelada em freezer -20°C para posterior liofilização por 16 horas. O agente ativo pode constituir cerca de 5 a 85% do peso da formulação.

5

#### **DETERMINAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DAS PARTÍCULAS**

##### **A) TAXA DE INCORPORAÇÃO DOS FÁRMACOS**

A determinação do teor dos fármacos nas partículas é importante para a garantia da dose correta a ser utilizada nos ensaios. Os teores de Anfotericina B nas partículas de PLGA serão determinados por CLAE. Os teores de antimônio (Sb) serão determinados por absorção atômica.

##### **B) TAXA DE LIBERAÇÃO DOS FÁRMACOS**

As partículas de PLGA terão a velocidade de liberação dos fármacos determinada em tampão fisiológico pH 7,2 a 37°C. Para tal, 10 mg de partícula serão incubados em 1ml de PBS, acrescido de 0,1% de azida, sob agitação constante de 80rpm e temperatura de 37°C. A coleta das amostras será feita através de centrifugação, retirada de 500 µl em tempos variando de 1 hora a 270 dias. As amostras serão analisadas por UV-CLAE para determinar o teor da anfotericina B liberada, o teor de antimônio será analisado por absorção atômica. Será construída a curva: % de liberação x tempo.

##### **C) DEGRADAÇÃO POLIMÉRICA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA**

A degradação e morfologia das micropartículas de PLGA em tampão PBS por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As partículas de PLGA obtidas em tempos variados em b acima serão liofilizadas e tratadas para visualização por MEV.

##### **D) ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO E DEGRADAÇÃO POLIMÉRICA DAS PARTÍCULAS**

A análise de tamanho e distribuição das partículas obtidas em b por centrifugação e liofilização será feita, usando o analisador de distribuição

granulométrica Coulter LS230. Pequenas quantidades de partículas serão dispersas em etanol absoluto P.A. com auxílio de ultrassom até atingirem o índice de obscuração requisitado pelo aparelho. O tamanho médio de partícula será expresso com o diâmetro médio em volume (D<sub>4,3</sub>). O diâmetro das partículas será calculado em D<sub>0,9</sub>, D<sub>0,1</sub> e D<sub>0,5</sub>, que significam o diâmetro de partícula correspondente a 90, 50 e 10 % da distribuição acumulada e a polidispersão será dada pelo índice *span*, o qual será calculado por (D<sub>0,9</sub> – D<sub>0,1</sub>/D<sub>0,5</sub>). As partículas analisadas em C por MEV terão também seu tamanho médio avaliado pelo analisador Coulter LS230.

#### 10 E) ANÁLISE DE CARGA SUPERFICIAL (POTENCIAL ZETA)

As partículas de PLGA serão dispersas em água com pH corrigido para 7,0 e as medidas de potencial zeta serão determinadas em um aparelho Zetamaster (Malvern Instruments). A dispersão das micropartículas para as medidas de potencial zeta será preparada em duplicata e cada amostra será medida 10 vezes.

#### 15 ESTUDOS *IN VITRO*

##### A) AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIAMASTIGOTA INTRACELULAR

Macrófagos serão isolados do peritônio de camundongos BALB/c, por aderência em placas de cultura de 24 poços, infectados com promastigotas de *L. amazonensis* GFP e tratados com as formulações por 72h. Após o tempo de incubação, as células serão raspadas e a carga parasitária será avaliada por fluorimetria em fluorímetro de placa (excitação 485 nm, emissão 528 nm) (ROSSI-BERGMANN, *et al.*, 1999) (FLx800, Bio-Tek Instruments, Inc) para *L. amazonensis* ou contagem em microscópica.

##### 25 B) EFEITO CITOTÓXICO OU ADJUVANTE SOBRE OS MACRÓFAGOS

Macrófagos serão isolados do peritônio de camundongos BALB/c, por aderência em placas de cultura de 24 poços, partículas de PLGA vazias ou contendo os fármacos serão adicionadas e após 72 horas o

sobrenadante das culturas será avaliado quanto à produção de NO (Oxido Nítrico) pela metodologia de Griss e para avaliação da atividade microbica e a presença da enzima lactato desidrogenase (LDH), para avaliação de toxicidade por necrose, pela dosagem do lactato (Kit Dolles).

#### **C) HISTOPATOLOGIA DA PELE**

Para avaliar o efeito inflamatório intralesional provocado pelas formulações e ao mesmo tempo avaliar a degradação das partículas de PLGA *in situ*, os animais serão sacrificados em diferentes tempos após a administração. As orelhas serão fixadas e serão feitos cortes histológicos das patas infectadas e tratadas para análise histopatológica por microscopia ótica.

#### **D) AVALIAÇÃO DE IMUNOTOXICIDADE CUTÂNEA DAS MICROFORMULAÇÕES DE EM CAMUNDONGOS HAIRLESS**

O teste de medida de edema de orelha (mouse ear swelling test - MEST). É recomendado pela OECD e ANVISA e será realizado para avaliação de imunotoxicidade cutânea (alergenicidade),

- Teste de medida de edema de orelha (mouse ear swelling test - MEST)

O MEST avalia o aumento da espessura da orelha como sinal de sensibilização cutânea. Os animais receberão 3 aplicações tópicas de 100ul das formulações a cada 2 dias (dias 0, 2 e 4) na região dorsal (fase de indução). Após 5 dias, será feita a aplicação tópica de 10ul das substancias em uma orelha e na outra 10ul da formulação será aplicada intradermicamente (fase de desafio). Esse é o tempo necessário para que o organismo produza a resposta imunológica. As medidas do inchaço das orelhas serão avaliadas nos tempos 6, 18, 36, 48 e 72 horas depois do desafio. A sensibilização cutânea é positiva quando há um aumento da espessura da orelha acima de 10% em relação ao grupo controle. O oxazolone (0,3%) é a substância mais utilizada como controle positivo nestes testes de sensibilização cutânea e, segundo a literatura, promove um aumento de 30% da espessura da orelha em relação à medida antes do desafio.

### E) AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS

Os animais serão tratados pela via intralesional, o sangue será coletado e o plasma obtido por centrifugação será pré-tratado seguindo a metodologia proposta por (WANG & MORRIS, 2005; PAGANGA & RICE-  
5 EVANS, 1997 e-MANACH *et al.*, 1996) baixando o pH para 4 utilizando H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>; acidificando com Acetonitrila e centrifugando. A acidificação das amostras é importante para quebrar possíveis ligações com proteínas plasmáticas. Após este procedimento as amostras de plasma serão analisadas utilizando UV-  
10 CLAE para a anfotericina B e absorção atômica para os antimoniais. Os parâmetros farmacocinéticos (C<sub>max</sub>; ASC<sub>0-∞</sub>; t<sub>1/2β</sub>; V<sub>d</sub>; e Cl) serão obtidos com auxílio de um software (ADAPT: Pharmacokinetic/pharmacodynamic systems analysis) produzido pela University of Southern California, disponível gratuitamente para  
download. Alternativamente, para determinação da quantidade de droga liberada localmente, as orelhas tratadas serão removidas após diferentes  
15 tempos, e maceradas em acetonitrila. As suspensões serão clarificadas por centrifugação e processadas como descrito para o plasma.

#### DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A Figura 1 mostra o resultado da análise de tamanho das partículas de PLGA contendo o Glucantime (antimoniato de meglumina) ou  
20 Anfotericina B, onde a figura 1A representa as micropartículas vazias, 1B as micropartículas contendo Glucantime e 1C as micropartículas contendo Anfotericina B.

A figura 2 mostra a análise da morfologia das partículas de PLGA avaliada por MEV e as imagens obtidas por microscopia eletrônica de  
25 varredura (MEV) das partículas de PLGA vazias (A), Glucantime (B), com Anfotericina B (C). Aumentos de 1500X, 3500X e 5000X, respectivamente.

A figura 3A mostra o ensaio *in vitro* da incorporação de Anfotericina B em micropartículas de PLGA, onde as micropartículas de



PLGA/Anfotericina B (1mg/ml) foram dissolvidas previamente em DMSO, em seguida, a amostra foi diluída em uma solução aquosa de Ácido Fosfórico (0,001%) e Acetonitrila (60/40) nas concentrações A=50ug/ml; B=100ug/ml e C=200ug/ml. A Incorporação teórica de Anfotericina B nas micropartículas é de 10% (p/p). As amostras foram feitas em triplicatas.

A figura 3B mostra o ensaio *in vitro* da liberação de Anfotericina B, onde as micropartículas de PLGA/Anfotericina B, (6mg/ml contendo 535µg de Anfotericina B /ml), foram incubadas em solução de PBS 0,1% de Azida, pH=7.2 e mantido a 37°C em agitação constante de 80rpm. Em diferentes tempos as amostras foram centrifugadas a 1500rpm por 10 minutos e aliquotas foram retiradas do sobrenadante para dosagem em HPLC da Anfotericina B liberada. O teor de Anfotericina B nas partículas é de 8,92% (Gráfico 6.2.3).

A figura 4 mostra a análise da erosão das micropartículas de PLGA contendo anfotericina B, através das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As imagens A e B no tempo zero, as imagens C e D com tempo igual a 30 dias em tampão PBS e, as imagens E e F com tempo igual a 120 dias em tampão PBS.

A figura 5 mostra a eficácia do encapsulamento de Anfotericina B em micropartículas de PLGA administrado em dose única no tratamento de leishmaniose cutânea murina por via intralesional, onde camundongos BALB/c foram infectados com  $2 \times 10^6$  promastigotas de *L.amazonensis* GFP na orelha. Após 10 dias de infecção, os animais foram aleatoriamente separados em grupos de 4. O grupo tratado com Anfotericina B livre, recebeu injeções intralesionais duas vezes por semana com doses de 50 ug do fármaco por 4 semanas (total de 8 doses). O grupo tratado com PLGA/Anfotericina B recebeu uma única dose da formulação intralesionalmente com dose 50 ug de Anfotericina B (1 dose). Os controles receberam uma única administração de PLGA de 500ug (1 doses), ou 10ul de PBS. (A) O crescimento lesão (espessura da orelha infectada menos espessura antes da infecção) foi

acompanhado durante o experimento com o auxílio de paquímetro. (B) Carga parasitária medida por unidades de fluorescência específica, obtida 42 dias após a infecção. Fluorescência basal =  $76728,5 \pm 1472$ . (C) Fotografia das orelhas infectadas, o halo vermelho indica o local de infecção. Média  $\pm$ SD (n=4), \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$ .

A figura 6 mostra o tratamento de leishmaniose cutânea murina por via intralesional, onde camundongos BALB/c foram infectados com  $2 \times 10^6$  promastigotas de *L. amazonensis* GFP na orelha. Após 7 dias de infecção, os animais foram aleatoriamente separados em grupos de 4. No tratamento 1 o grupo tratado com PLGA/Anfotericina B recebeu uma dose da formulação intralesionalmente com dose 1,25 ug de Anfotericina B. O grupo tratado com Anfotericina B livre e Anfotericina B Lipossomal, recebeu uma dose 1,25 ug do fármaco. Os controles receberam uma única administração de PLGA de 12,5 ug ou 10ul de PBS. No tratamento 2 o grupo tratado com PLGA/Anfotericina B recebeu uma dose da formulação intralesionalmente com dose 50 ug de Anfotericina B. O grupo tratado com Anfotericina B livre e Anfotericina B Lipossomal, recebeu uma dose 50 ug do fármaco. Os controles receberam uma única administração de PLGA de 500ug ou 10ul de PBS. O crescimento lesão (espessura da orelha infectada menos espessura antes da infecção) foi acompanhado durante o experimento com o auxílio de paquímetro.

A figura 07 mostra a avaliação da carga parasitária na lesão após o tratamento intralesional com as micropartículas de PLGA contendo Anfotericina B: O tratamento de leishmaniose cutânea murina por via intralesional com micropartículas de PLGA com Anfotericina B diminui a carga parasitária na lesão de animais infectados com *L. amazonensis*. As cargas de parasita no lisado da lesão foram medidas no dia 67 de infecção. O número de parasitas na lesão (A) e no linfonodo auricular (B) foi determinado pelo método de diluição limitante (LDA), a carga parasitária em (C) foi medida em unidades de fluorescência específica (FU). \*  $p < 0,01$  em relação ao grupo PBS. ▼  $p <$

0,001 em relação ao grupo PLGA. •  $p < 0,05$  em relação ao grupo PLGA. Média  $\pm$  DP (n = 4).

A figura 08 mostra a avaliação de toxidez cardíaca, hepática e renal. O sangue dos animais foi retirado 67 dias após a infecção para dosagens de: (a) níveis séricos de TGO; (b) níveis séricos de TGP; (c) níveis séricos de creatinina no soro. Controle negativo: PBS. Controle positivo:  $CCl_4$ .

A figura 9 mostra a determinação da melhor proporção de droga na formulação. Foram preparadas micropartículas de PLGA contendo Anfotericina B adicionada em diferentes proporções em relação ao polímero (5%, 10% e 20%, como indicado). As partículas foram então lavadas e secadas. Para determinação do melhor rendimento do processo, as partículas secas foram totalmente dissolvidas em Acetonitrila após agitação por 24 horas a 100 rpm. As amostras foram então centrifugadas a 10.000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi retirado para quantificação do teor da droga incorporada por CLAE.

Tabela 1: O tamanho médio de partícula expresso como diâmetro médio em volume (D 4,3).

Especificação	Distribuição do diâmetro das partículas ( $\mu\text{m}$ )					
	D(4,3)	d 10	d 50	d 90	SD	span
PLGA vazia	5,30	1,28	3,67	10,40	2,30	2,4
PLGA / GLUCANTIME	9,07	1,79	8,61	16,40	2,43	1,69
PLGA / ANFOTERICINA B	5,52	1,57	5,00	10,30	2,33	1,75

Tabela 2: A carga superficial das partículas foi avaliada pelo Potencial

20 Zeta.

<b>Especificação</b>	<b>Potencial Zeta</b>	<b>SD</b>
PLGA vazia	-11,0	2,6
PLGA / GLUCANTIME	-13,2	4,5
PLGA / ANFOTERICINA B	-10,6	2,3

### **EXEMPLOS**

#### **EXEMPLO 1: CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DAS PARTÍCULAS DE PLGA CONTENDO**

#### **GLUCANTIME OU ANFOTERICINA B**

##### **ANÁLISE DE TAMANHO E DISTRIBUIÇÃO**

5 A análise da distribuição granulométrica (polidispersão) nas partículas vazias e nas partículas com Glucantime encapsulada, gerando as distribuições conforme figura 1B. O tamanho médio de partícula foi expresso com o diâmetro médio em volume (D 4,3). As diferentes % de distribuição acumulada estão indicadas na tabela 1. Ao analisarmos a distribuição

10 granulométrica das partículas com Glucantime, podemos observar uma população mais heterogênea, com span de 1,69um para partículas de Glucantime em PLGA. A carga superficial das partículas foi caracterizada, avaliadas pelo Potencial Zeta. Os valores são mostrados na tabela 2.

15 A análise da distribuição granulométrica (polidispersão) nas partículas vazias e nas partículas com Anfotericina B encapsulada, gerando as distribuições conforme figura 1C. O tamanho médio de partícula foi expresso com o diâmetro médio em volume (D 4,3). As diferentes % de distribuição acumulada estão indicadas na tabela 1. Ao analisarmos a distribuição granulométrica das partículas com Anfotericina B, podemos observar uma

20 população mais heterogênea, com span de 1,75 um para partículas de Anfotericina B em PLGA. A carga superficial das partículas foi caracterizada, avaliadas pelo Potencial Zeta. Os valores são mostrados na tabela 2.

##### **ANÁLISE MORFOLOGICA DAS PARTÍCULAS**

25 A morfologia das partículas também foi avaliada por MEV e as imagens estão representadas na Figura 2. Pela análise morfológica das

partículas, podemos observar a formação de aglomerados que podem explicar a heterogeneidade observada na distribuição de tamanho da população, quando o Glucantime ou a Anfotericina B estão encapsulados.

**EXEMPLO 2: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE ENCAPSULAÇÃO, LIBERAÇÃO E**

5 **DEGRADAÇÃO DAS PARTÍCULAS *IN VITRO***

A Taxa de incorporação de Anfotericina B nas micropartículas de PLGA pode ser observada na figura 3A. Pela análise do teor de anfotericina B das partículas quando estas foram previamente dissolvidas em DMSO e analisada em HPLC. Podemos observar que a Média da taxa de incorporação  
10 foi de 89,2%, com esse rendimento o teor de anfotericina B na partícula é de 8,92% e não os 10% (p/p) de Anfotericina B em micropartículas de PLGA teórico.

No ensaio de liberação da anfotericina B das micropartículas de PLGA *in vitro*, as partículas foram incubadas em solução de PBS 0,1% de Azida, pH=7.2 e mantido a 37°C em agitação constante de 80rpm, em  
15 diferentes tempos as amostras foram centrifugadas e alíquotas foram retiradas do sobrenadante para dosagem da anfotericina B por cromatografia de alta eficiência (CLAE). Com esta análise podemos observar que aproximadamente 60% da anfotericina B que estava incorporada às micropartículas foi liberada  
20 para o sobrenadante nas condições analisadas, como podemos observar na Figura 3B. Análise da erosão das micropartículas.

A análise da degradação e morfologia das micropartículas de PLGA contendo anfotericina B em tampão PBS foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As micropartículas de PLGA foram obtidas em tempos variados, liofilizadas e tratadas para  
25 microscopia eletrônica. A incorporação da anfotericina B nas micropartículas de PLGA não promove mudanças significativas no tamanho, formato ou carga das partículas como observamos nos resultados anteriores (exemplo 1). No estudo da degradação as partículas vazias e contendo a anfotericina B não apresentaram diferenças morfológicas e nem mudanças na erosão da partícula (dados não mostrados). Como podemos observar na Figura 4 (A e B) as

micropartículas contendo anfotericina B no tempo zero apresentavam um formato esférico de tamanhos bastante variados, na Figura 4 (C e D) observamos a morfologia no tempo de 30 dias em solução tampão, onde podemos observar a presença de estruturas quadriculadas em um número bastante significativo, na Figura 4 (E e F) observamos a morfologia no tempo igual a 120 dias em solução tampão, podemos observar uma predominância de estruturas quadriculadas oriundas da degradação das micropartículas de PLGA. Neste ponto, aproximadamente 60% da anfotericina B já foi liberada (exemplo 1).

### **EXEMPLO 3: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DAS COMPOSIÇÕES NO TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA**

Na avaliação da atividade *in vivo* das micropartículas de PLGA contendo Anfotericina B. As micropartículas de PLGA com anfotericina B promoveram diminuição no crescimento da lesão na dose única de 50 µg/Kg como podemos observar na Figura 5 (A), o grupo tratado com Anfotericina B livre, recebeu injeções intralesionais duas vezes por semana com doses de 50 µg do fármaco por 4 semanas (total de 8 doses). Com a avaliação da carga parasitária (B) podemos concluir que a Anfotericina B/PLGA promoveu uma diminuição significativa da fluorescência comparando com o grupo tratado com placebo, apesar do tamanho da lesão ter diminuído não houve diferença estatística entre o grupo tratado com as micropartículas vazias e o grupo tratado com placebo quando comparamos a carga parasitária. Podemos observar em C, que as lesões das orelhas dos camundongos tratados estão diminuídas e menos inflamadas que as dos não tratados. A Anfotericina B encapsulada administrada em uma única dose promoveu uma diminuição do tamanho da lesão e na carga parasitária bastante significativa.

Na avaliação de atividade *in vivo* com o tratamento pela via tópica, o tratamento tópico com os LCs contendo 6,6 µg CH8 apresentou a mesma atividade que o controle positivo intraliesional, que recebeu 3,3 µg da CH8 livre (Figura 4). O mesmo efeito é obtido com a avaliação da carga

parasitária ao final do experimento (Figura 5). Este resultado demonstra a capacidade da formulação em lipossomas convencionais (LCs) de penetrar a pele e veicular a chalcona nitrada(CH8) à região infectada, possibilitando assim, o tratamento por uma via não invasiva. O grupo tratado com a  
5 formulação de CH8 em lipossomas convencionais apresentou maior eficácia que o grupo tratado com uma dose bem mais alta de 200 ug de CH8 livre em creme lanete. Os demais grupos que foram tratados com os veículos vazios (lipossomas convencionais LCs, lipossomas peguilados LPs e creme lanete) apresentaram perfil semelhante ao grupo não tratado, indicando atividade  
10 específica da chalcona nitrada(CH8).

O uso da formulação de chalcona nitrada(CH8) encapsulada em lipossomas convencionais é a mais vantajosa, pois apresenta o mesmo desempenho que os lipossomas peguilados, sem necessidade de incluir a etapa adicional de incorporação de PEG, na avaliação de retenção cutânea em  
15 células de Franz. E sua eficácia foi maior que o peguilado no tratamento do animal pela via tópica, apresentando o mesmo controle da infecção que o grupo tratado com chalcona nitrada(CH8) intralesional, com a vantagem de ser esta uma via não invasiva. Estes resultados podem ser verificados nas Figuras 3 e 4.

**REIVINDICAÇÕES**

- 1- Composições farmacêuticas caracterizadas por conter uma quantidade farmacologicamente efetiva de medicamentos ou fármacos antileishmaniais encapsulados em partículas de PLGA.
- 5 2- Composições farmacêuticas de acordo com a reivindicação 1, caracterizadas por serem os medicamentos ou fármacos a Anfotericina B, compostos antimoniais, tais como antimoniato de meglumina, chalcona nitrada (CH8), estibogluconato de sódio e tartarato de potássio e antimônio (III) hidratado (SbIII), combinados ou não, encapsulados em partículas de PLGA,
- 10 além de excipientes farmacologicamente aceitáveis.
- 3 – Composições de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado pelo fato da quantidade do medicamento ou fármaco constituir-se de cerca de 1 a 70% do peso da formulação.
- 4 - Composições de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado pelo fato da porcentagem ótima do encapsulamento do
- 15 medicamento ou fármaco ser de 10% em relação ao polímero.
- 5 – Composições de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado pelo fato das partículas de PLGA apresentarem tamanhos variando entre 0,5 e 500µm.
- 20 6- Composições de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por uma variação copolímeros de ácido glicólico e láctico serem usados e o percentual de cada monômero de ácido poli (láctico-co-glicólico) ser, cerca de 15-85%, cerca de 25-75%, cerca de 35-65%, ou a proporção de 50-50%.
- 25 7- USO das composições farmacêuticas descritas nas reivindicações de nº 1 a 4, caracterizado por ser voltado para a produção de um medicamento para o tratamento de doenças cutâneas inflamatórias e infecciosas da pele ou em regiões da pele (derme, epiderme e anexos), tais



como, leishmaniose, micoses, hanseníase, psoríases, ulcera tropical, verrugas, hemangioma cavernoso em animais mamíferos.

8- Método de tratamento de parasitoses, caracterizado por compreender a aplicação subcutânea de uma quantidade terapêuticamente efetiva da composição conforme definida nas reivindicações de nº 1 a 4, a um animal mamífero portador da leishmaniose.

**FIGURAS**

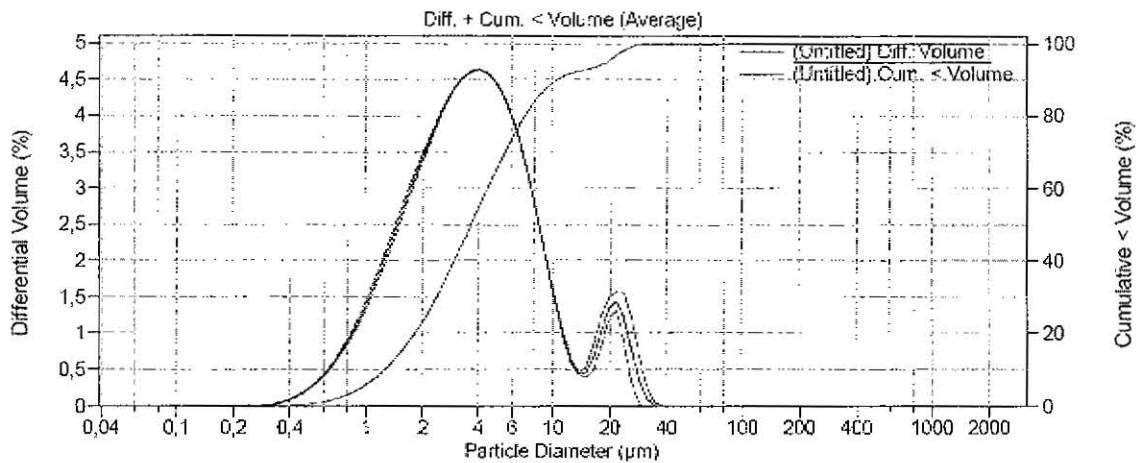


Figura 1A

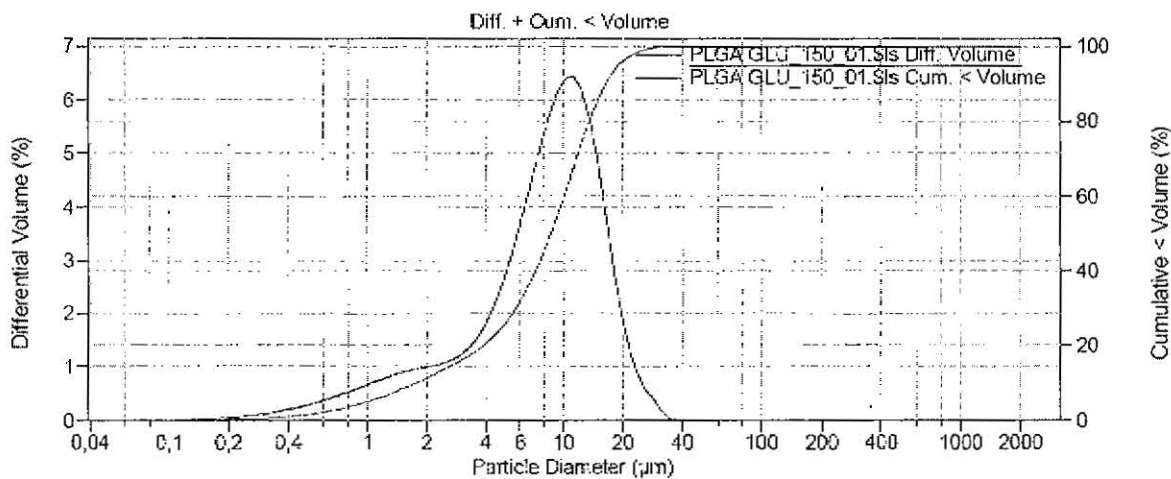


Figura 1B

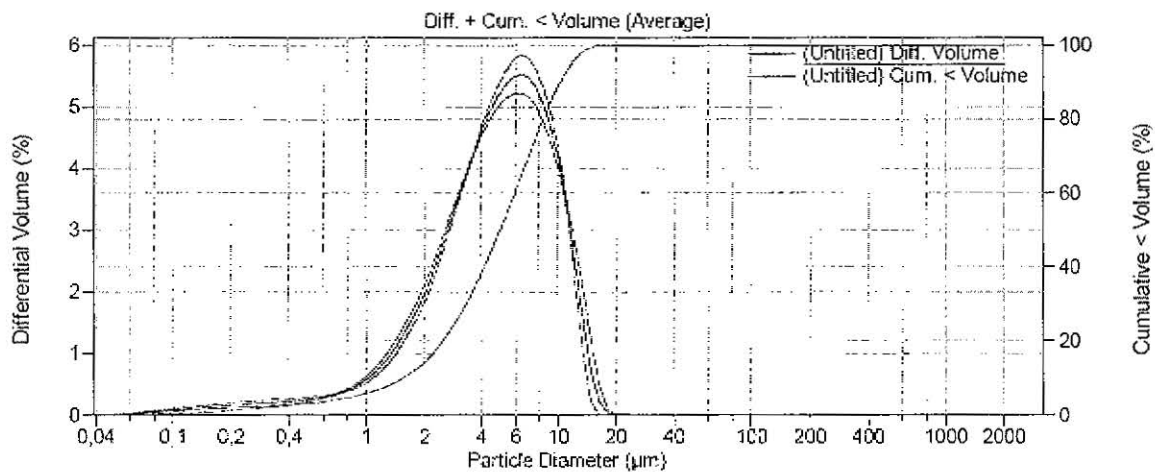


Figura 1C

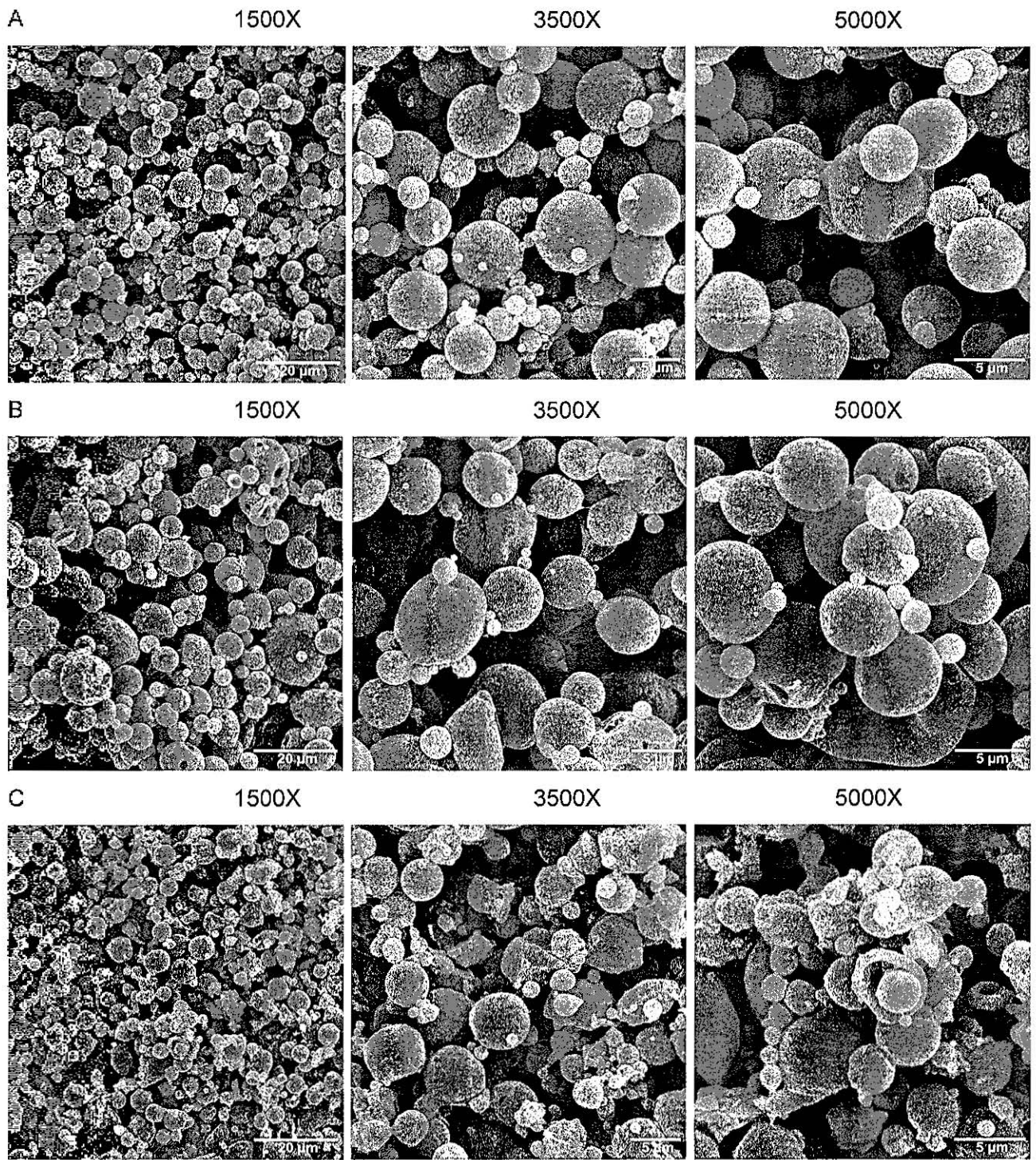


Figura 2

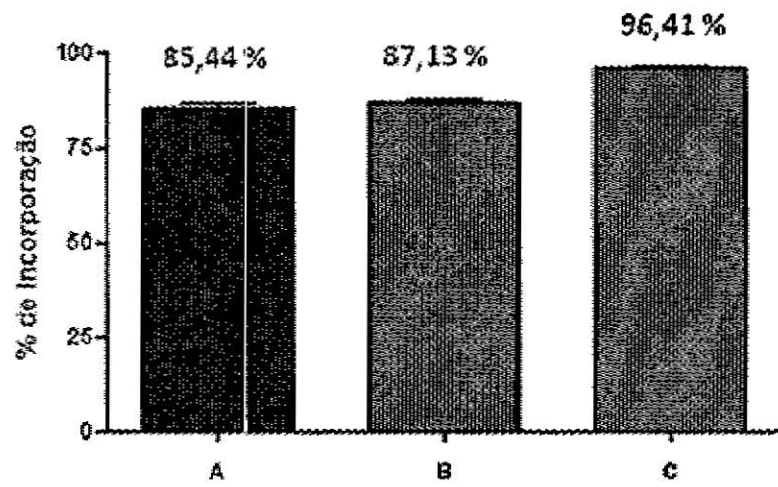


Figura 3A

## Ensaio de Liberação de Anfotericina B

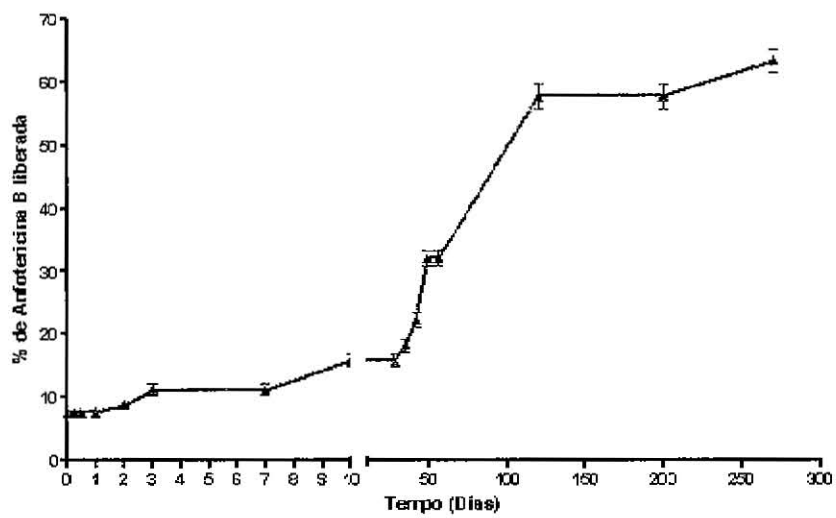


Figura 3B

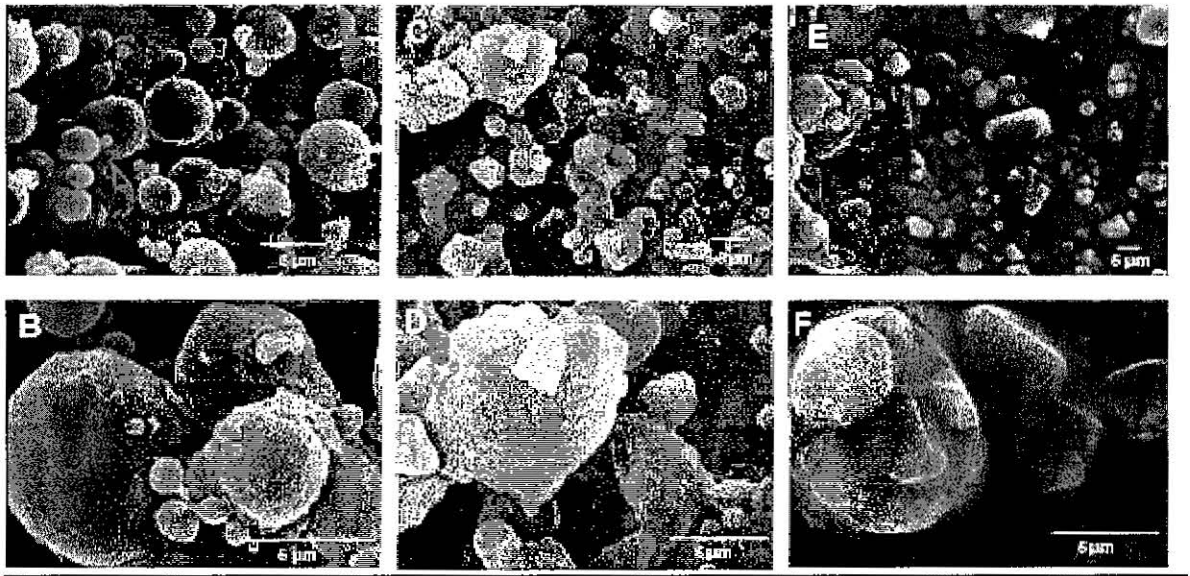


Figura 4

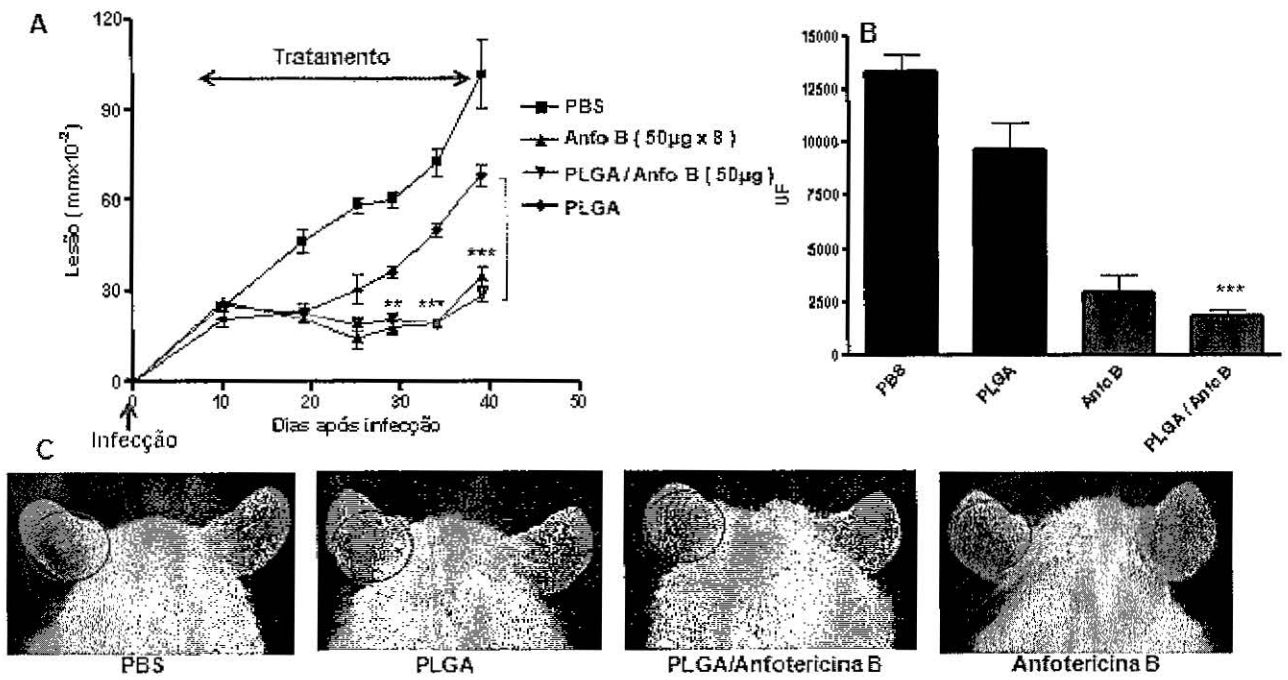


Figura 5

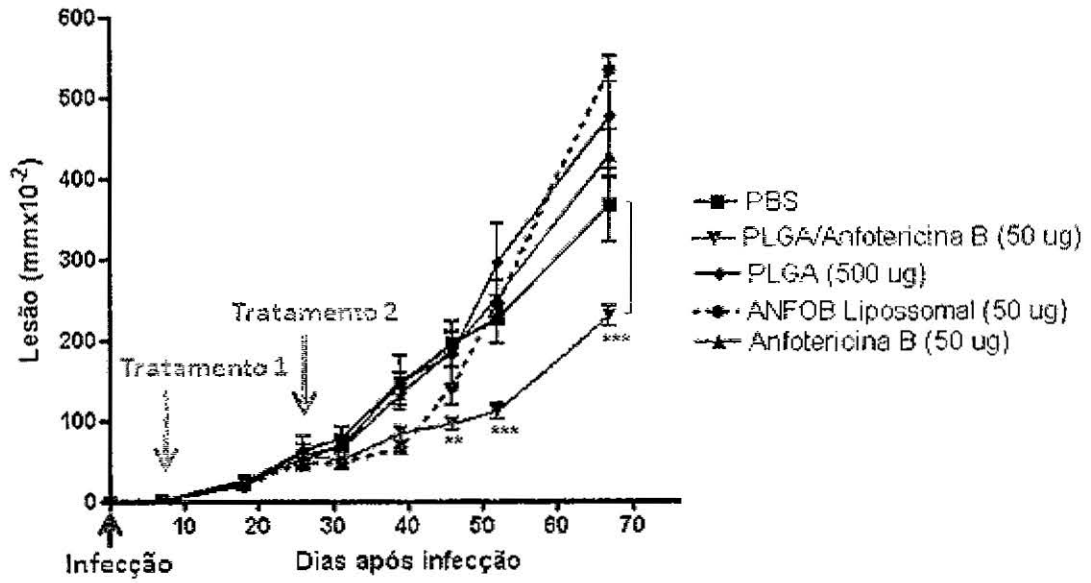


Figura 6

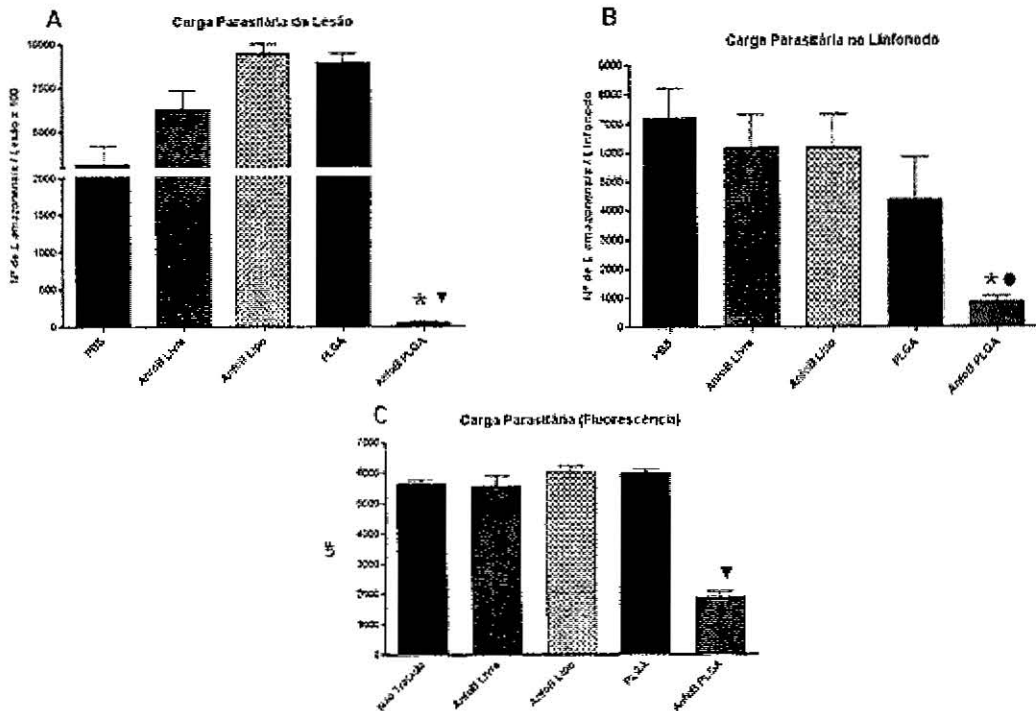


Figura 07

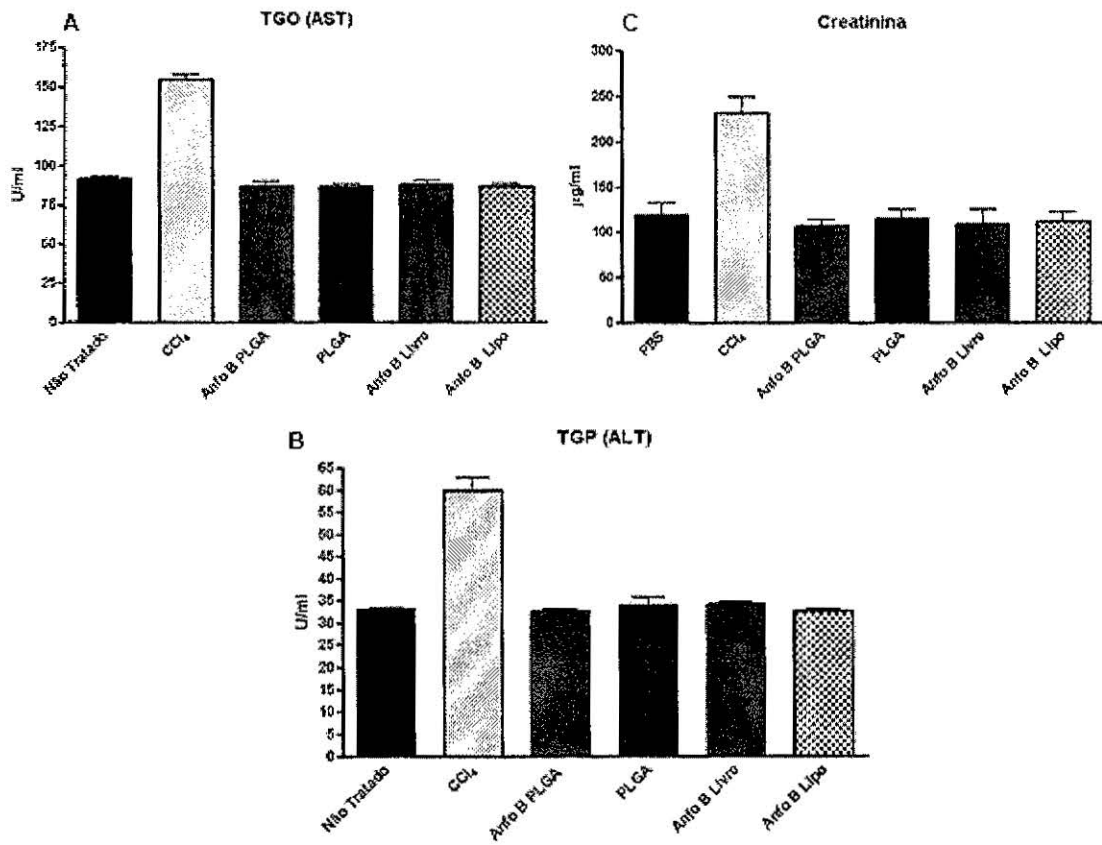


Figura 8

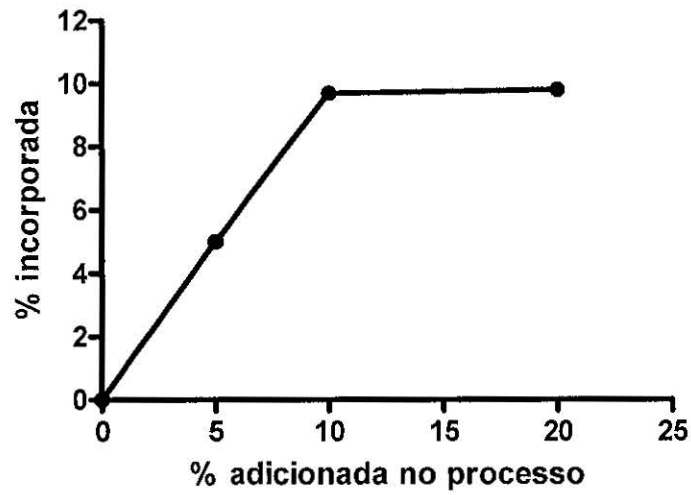


Figura 9

RESUMO

**COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS MICROPARTICULADAS CONTENDO ANTIPARASITÁRIOS PARA TERAPIA SUBCUTÂNEA PROLONGADA, USO DAS DITAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA A PRODUÇÃO DE UM MEDICAMENTO E MÉTODO DE TRATAMENTO DE PARASIToses.**

A inovação ora proposta se refere a uma composição farmacêutica contendo Anfotericina B, chalcona nitrada (CH8) ou Glucantime encapsulados em micropartículas de polímeros biodegradáveis de liberação lenta, ao processo de encapsulamento do fármaco no interior das partículas; ao uso destas composições farmacêuticas, a um medicamento e ao tratamento de parasitoses.