



\* B R 1 0 2 0 2 0 0 1 5 1 8 4 A 2 \*

**República Federativa do Brasil**

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,  
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(21) BR 102020015184-3 A2**

**(22) Data do Depósito:** 24/07/2020

**(43) Data da Publicação Nacional:**  
14/03/2023

**(54) Título:** CARREADOR LIPÍDICO NANOESTRUTURADO COMPREENDENDO HIDROXIMETILNITROFURAL E SEU USO PARA O PREPARO DE UM MEDICAMENTO PARA TRATAR LEISHMANIOSE

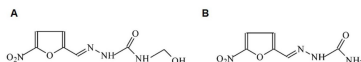
**(51) Int. Cl.:** A61K 31/345; A61K 47/14; A61P 33/02.

**(52) CPC:** A61K 31/345; A61K 47/14; A61P 33/02.

**(71) Depositante(es):** UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP; UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO - UNESP.

**(72) Inventor(es):** NADIA ARACI BOU CHACRA; ALINE DE SOUZA; CHUNG MAN CHIN; ELIZABETH IGNE FERREIRA; CAUÊ BENITO SCARIM.

**(57) Resumo:** CARREADOR LIPÍDICO NANOESTRUTURADO COMPREENDENDO HIDROXIMETILNITROFURAL E SEU USO PARA O PREPARO DE UM MEDICAMENTO PARA TRATAR LEISHMANIOSE. A presente invenção se insere no campo da nanotecnologia, mais particularmente ela se refere a carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) compreendendo hidroximetilnitrofural (NFOH) no tratamento da Leishmaniose. Mais particularmente, a presente invenção revelou um CLN-NFOH estável, cuja concentração de NFOH menor no plasma em ratos após a administração oral apresentou resultados promissores, sendo o CLN-NFOH, portanto, considerado um potencial candidato para o preparo de medicamento oral para tratar leishmaniose.



**CARREADOR LIPÍDICO NANOESTRUTURADO COMPREENDENDO  
HIDROXIMETILNITROFURAL E SEU USO PARA O PREPARO DE UM  
MEDICAMENTO PARA TRATAR LEISHMANIOSE**

**Campo da invenção:**

[001] A presente invenção se insere no campo da nanotecnologia, mais particularmente ela se refere a carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) compreendendo hidroximetilnitrofural (NFOH) para aplicação na área da saúde, em especial para preparar medicamento para o tratamento da Leishmaniose.

[002] Mais particularmente, a presente invenção revelou um CLN-NFOH estável, cuja concentração de NFOH menor no plasma em ratos após a administração oral apresentou resultados promissores, sendo o CLN-NFOH, portanto, considerado um potencial candidato para preparar um medicamento oral para tratar leishmaniose.

**Fundamentos da invenção:**

[003] A leishmaniose é uma doença tropical negligenciada, na qual o parasita infecta macrófagos no fígado, baço, medula óssea e linfonodos<sup>[1]</sup>. Atualmente, no tratamento de primeira linha para leishmaniose são utilizados os antimoniais pentavalentes administrados via parenteral: antimoniato de meglumina (Glucantime®, Sanofi Aventis, 81 mg/mL, solução) e estibogluconato de sódio (Pentostam™, Glaxo Smith Kline, 100 mg/mL, solução injetável). Outros fármacos alternativos podem incluir pentamidina e anfotericina B, também administradas por via parenteral.<sup>[2]</sup> No entanto, elas requerem a administração de doses elevadas e repetidas e pelo menos 20 dias de tratamento e hospitalização.<sup>[1,3]</sup> Além disso, esses medicamentos

apresentam efeitos adversos como pancreatite, cardiotoxicidade, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e indução de cepas resistentes aos fármacos.<sup>[4]</sup>

[004] O hidroximetilnitrofural (NFOH) (Figura 1A) tem sido uma alternativa promissora para o tratamento da leishmaniose. Chung et al<sup>[5]</sup> obtiveram este composto pela primeira vez, utilizando uma modificação molecular da nitrofurazona (NF) (Figura 1B), um agente antimicrobiano tópico. O NFOH possui massa molecular de 228,164 g/mol, Pka de 10,89, Log P de - 0,49 e solubilidade em água de 0,992 mg/mL.<sup>[5]</sup> O NFOH mostrou alta atividade em culturas da célula infectada do *Trypanosoma cruzi* e menor toxicidade quando comparado ao NF. Também mostrou atividade contra *L. amazonensis*, confirmada por teste *in vitro*.<sup>[6]</sup>

[005] Em estudos pré-clínicos de genotoxicidade *in vitro* (teste de Ames) realizados com duas linhagens de *Salmonella typhimurium*, o NFOH mostrou-se quatro vezes menos tóxico quando comparado ao NF.<sup>[7]</sup> Trabalho realizado por Boquesi et al.<sup>[8]</sup> mostrou que o resultado obtido nos testes de toxicidade aguda para o NFOH em camundongos e ratos sugeriu baixa toxicidade desse, obtendo-se dose letal mediana (DL50) maior em relação ao fármaco de partida, NF (556,3 mg.kg<sup>-1</sup>). Por via oral os resultados caracterizaram o NFOH como pouco tóxico, segundo a OMS com valor de DL50 acima de 2000 mg.kg<sup>-1</sup>.<sup>[8]</sup> Apesar de sua eficácia, a baixa solubilidade em água do NFOH limita sua atividade terapêutica.<sup>[9]</sup> Assim, é de fundamental importância o desenvolvimento de plataforma tecnológica que permita nova geração de medicamentos com atividade leishmanicida.

[006] Em busca de novas abordagens para superar esta

limitação, os sistemas lipídicos nanoestruturados mostraram ser uma alternativa. Eles melhoram a farmacocinética, modificam a liberação do fármaco e podem ser usados para direcionar o fármaco em um local específico.<sup>[3,10]</sup> Assim, é possível aumentar a eficácia, reduzir a toxicidade e reduzir a frequência e a duração do tratamento.<sup>[11]</sup> Além disso, preparações nanoestruturadas podem aumentar o tempo de circulação do fármaco no corpo e encapsular moléculas lipofílicas.<sup>[12]</sup> Entre as alternativas estão a nanoemulsão (NE), nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) e carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN), a segunda geração de nanopartículas lipídicas sólidas.

[007] Em particular, o CLN é constituído por partículas coloidais que apresentam matriz composta por uma mistura binária de lipídio sólido e lipídio líquido dando origem a uma estrutura menos ordenada, sólida à temperatura ambiente e corporal.<sup>[13]</sup> Essa característica permite maior eficiência de encapsulação quando comparada à convencional NLS.<sup>[14]</sup> CLN pode ser preparada usando homogeneização a alta pressão, uma tecnologia viável para escalonamento.<sup>[15]</sup> O CLN tem muitas vantagens, como baixo custo de produção, sem necessidade de solventes orgânicos e alta estabilidade.

[008] No entanto, uma abordagem racional sistemática é necessária no desenvolvimento de CLN para selecionar seus componentes adequados e sua concentração. Os lipídios que solubilizam maior quantidade de fármacos podem ter maior carga de fármaco, eficiência de encapsulação e aumentar a estabilidade das nanopartículas.<sup>[16,17]</sup> Assim, esta tarefa é uma parte crítica do desenvolvimento da formulação, pois a forma como cada componente interage entre si pode diferenciar

o resultado obtido. A predição do resultado não é possível de ser feita baseada no conhecimento das características físico-químicas dos componentes. Isso porque há também a interação dos lipídios e tensoativos com o fármaco, diminuindo ainda mais a possibilidade de previsão do resultado. São tantas as possibilidades que, com certeza, não será possível o estudo de todas as combinações. As possíveis combinações entre lipídios e tensoativos são quase infinitas. Dessas, apenas uma ínfima parte vai apresentar características adequadas para um determinado fármaco. Assim, o fato de existirem lipídios e tensoativos não implica na existência automática de carreador lipídico nanoestruturado com atividade biológica. Muitas poucas misturas de lipídios e tensoativos resultam em fórmulas de sucesso.

[009] Além disso, o conceito de delineamento experimental no desenvolvimento farmacêutico tem sido considerado uma etapa importante da qualidade de projeto. O delineamento experimental oferece garantia de qualidade e compreensão do processo por meio de uma combinação multivariada e interação de variáveis de entrada.<sup>[18,19]</sup> Isso pode ser alcançado usando a ferramenta de projeto de experimento (DoE). DoE é uma ferramenta excelente para auxiliar o desenvolvimento de qualquer produto, pois permite o entendimento das interações entre os componentes da fórmula.

[010] Portanto, uma abordagem de espaço design permitiu desenvolver um CLN-NFOH que mostrou potencial para ser um novo medicamento oral para o tratamento da leishmaniose. Para tanto, foram utilizados os lipídios líquidos Mygliol®

840 e Lipoid S100 e os lipídeos sólidos Gelucire® 50/13 e Precirol® ATO 5 para solubilizar o NFOH. Foram também aplicados para o desenvolvimento e otimização da formulação de CLN a homogeneização a alta pressão, e um desenho estatístico de mistura D-Optimal. Ainda, a otimização da formulação e a identificação dos limites e cada variável e sua influência no DHM foram possíveis usando DoE. Por fim, foi realizado o experimento utilizando CLN-NFOH em ratos o qual demonstrou a presença de NFOH no plasma após administração oral com uma dose aproximadamente 100 vezes menor, indicando que o CLN pode melhorar a absorção oral de NFOH.

**Estado da técnica:**

[011] O documento intitulado "*Synthesis and in Vitro Evaluation of Potential Antichagasic Hydroxymethylnitrofurazone (NFOH-121): A New Nitrofurazone Prodrug*" de 2003 refere-se ao estudo de NFOH-121 como intermediário para obter pró-drogas, o qual inesperadamente demonstrou ser um fármaco antichagásico potente. Já a presente invenção desenvolveu um produto farmacêutico para o NFOH, portanto, esse documento não ensina o desenvolvimento de um carreador lipídico nanoestruturado contendo NFOH, objeto da presente invenção.

[012] O documento BR 2016010599-4 ensina um carreador lipídico nanoestruturado formado por lipídio sólido, palmitato de cetila ou miristato de miristila, lipídio líquido, *Bixa orellana L* (urucum) e tensoativo preparado por fusão-emulsificação seguida de ultrasonicação. Portanto, esse documento não ensina o carreador específico contendo NFOH. Diferentemente, A presente invenção ensina carreadores

lipídicos nanoestruturados compostos por diestearato de gliceril, stearoil polioxil-32 glicerídeos, dicaprilato de propilenoglicol/dicaprato e NFOH e utilizou o processo de homogeneização a alta pressão na preparação do referido CLN.

[013] O documento intitulado "*Development of protocol for screening the formulation components and the assessment of common quality problems of nano-structured lipid carriers*" de 2013 trata de um estudo para avaliação dos componentes de uma formulação e a questão de qualidade das NLCs, neste caso para o agente anticâncer, CPT-11. Mais particularmente, o composto foi testado em diferentes óleos e avaliou três tensoativos diferentes na preparação do carreador lipídico nanoestruturado. O grupo selecionou o lipídio líquido, capmul MCM C8 (gliceril monocaprilato), lipídio sólido, compritol 888 (dibeenato de gliceril) e o tensoativo Pluronic F68 (poloxamer188). Apesar do tensoativo ser o mesmo da presente invenção, os demais componentes são diferentes, resultando em carreador lipídico nanoestruturado com características distintas. O processo utilizado para preparação da formulação foi o método de emulsificação por evaporação de solvente, diferente da presente invenção que utilizou o método de homogeneização por alta pressão, que não necessita de solvente orgânico.

[014] Já o documento intitulado "*Formulation optimization of docetaxel loaded self-emulsifying drug delivery system to enhance bioavailability and anti-tumor activity*" de 2016 se refere a sistema de liberação modificada alto-emulsificante contendo docetaxel, um composto utilizado para o tratamento de câncer de mama. Trata-se de um sistema diferente do carreador lipídico nanoestruturado da presente

invenção. Adicionalmente, os componentes utilizados também são distintos daqueles utilizados na presente invenção. Na formulação desse grupo foram utilizados Capryol 90 (propilenoglicol monocaprilato Tipo II), vitamina E TPGS, Gelucire 44/14 (glicerídio de lauril polioxil-32) e Transcutol HP (Éter monoetílico de dietileno glicol). Nenhum desses componentes faz parte da formulação da presente invenção. Importante enfatizar que, a formulação adequada é dependente das características do fármaco que são únicas.

[015] Ainda, o documento intitulado "*Buparvaquone Nanostructured Lipid Carrier: Development of an Affordable Delivery System for the Treatment of Leishmaniases*" de 2017 refere-se ao estudo de um desenho de formulação compreendendo BPQ formulada como NLC para tratamento da leishmaniose. No entanto, o carreador lipídico nanoestruturado contendo buparvaquona difere da presente invenção por se utilizar de diferentes componentes na sua composição. Esses componentes são: lipídio líquido (triglicérides do ácido cáprico/caprílico), lipídio sólido (óleo de palma hidrogenado) e uma mistura de tensoativos, poloxamer 188 e polisorbato 80, resultando em nanopartículas lipídicas otimizadas entre 100 e 200 nm e potencial zeta em torno de -20mV. Essa formulação é específica para a Buparvaquona que apresenta características físico-químicas próprias. A presente invenção utilizou outros componentes: lipídio líquido (Dicaprilato de propilenoglicol/dicaprato), dois lipídios sólidos (diestearato de gliceril e glicérides de estearoil polioxil-32) e tensoativo (poloxamer 188), resultando em nanopartículas lipídicas otimizadas entre 135 e 198 nm e potencial zeta entorno de -13 mV. Essa formulação

é específica para o NFOH que apresenta características físico-químicas próprias. Essa invenção também é resultado de um amplo estudo estatístico que determinou o intervalo ideal de concentração de cada um dos seus componentes. Por este motivo, a formulação de buparvaquona não pode ser considerada semelhante a esta invenção.

[016] Por fim, o documento BR102014007923-8 revela o potencial do hidroximetilnitrofural no tratamento da leishmaniose. Este documento descreve nanopartículas polimérica preparada a partir do monômero n-butil cianoacrilato e dextram (estabilizante). A técnica utilizada foi a polimerização do monômero em solução aquosa. A presente invenção utiliza lipídios em sua formulação para o desenvolvimento de carreador lipídico nanoestruturado. Portanto, as matrizes de ambas as formulações diferem consistentemente: uma é polimérica e a outra, lipídica. Diferentes matrizes resultam em diferentes interações biológicas não sendo, portanto, dedutíveis.

[017] Diante do exposto, a presente invenção propõe uma solução alternativa no que se refere ao tratamento da leishmaniose, uma vez que proporciona um sistema CLN-NFOH estável com uma combinação específica de lipídeos líquidos e sólidos e com a administração oral de uma concentração reduzida de NFOH, o que potencializa o seu uso como medicamento de uso oral no tratamento de leishmaniose.

**Sumário da invenção:**

[018] A presente invenção se refere a carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) compreendendo hidroximetilnitrofural (NFOH) para aplicação na área da saúde, em especial para preparar medicamento para o

tratamento da Leishmaniose.

[019] Mais particularmente, a presente invenção propõe uma solução alternativa no que se refere ao tratamento da leishmaniose, uma vez que proporciona um sistema CLN-NFOH estável com uma combinação específica de lipídeos líquidos e sólidos e com a administração oral de uma concentração reduzida de NFOH, o que potencializa o seu uso como medicamento de uso oral no tratamento de leishmaniose.

**Breve descrição das figuras:**

[020] Para obter uma total e completa visualização do objeto desta invenção, são apresentadas as figuras as quais se faz referências, conforme se segue:

Figura 1. Estrutura química de hidroximetilnitrofural (A) e nitrofurazona (B).

Figura 2. Microscopia óptica do (A) NFOH; (B) Gelucire® 50/13; (C) Gelucire® 50/13 e NFOH (2,0mg/g) and (D) Gelucire® 50/13 and NFOH (10mg/g). Ampliação em 10x.

Figura 3. Perfis termoanalíticos de hidroximetilnitrofural (NFOH), Gelucire® 50/13 e NFOH e Gelucire® 50/13 - mistura física (FM) por DSC, obtidos a 10 °C/min, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL / min), em que NFOH: hidroximetilnitrofural; NFOH-FM: NFOH em mistura física (1:1); IC: índice de cristalinidade.

Figura 4. Fluxograma do desenvolvimento do carreador lipídico nanoestruturado (CLN-NFOH).

Figura 5. Gráficos de contorno do modelo matemático CLN-NFOH para DHM, contendo as seguintes variáveis: Gelucire® 50/13, Precirol® ATO 5, Miglyol® 840, Poloxamer® 188 e água.

Figura 6. Distribuição do tamanho de partícula para CLN-NFOH (F2) pelo método do laser de dispersão por difração

líquida.

Figura 7. Cromatograma de hidroximetinitrofural (NFOH) em plasma de rato após administração oral de CLN-NFOH.

**Descrição Detalhada da Invenção:**

[021] A presente invenção se refere a carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) compreendendo hidrometilnitrofural (NFOH) no tratamento da Leishmaniose.

[022] Mais particularmente, os carreadores lipídicos nanoestruturados da presente invenção compreendem os seguintes ingredientes:

- a) de 2,0 a 9,0% de pelo menos um lipídio líquido e
  - b) de 0,00 a 7,00% de pelo menos um lipídio sólido, e
  - c) de 0,2 a 0,9% de pelo menos um agente solubilizante,
- e
- d) de 0,00 a 3,00% de pelo menos um tensoativo,
  - e) de 0,028% a 0,126 %, preferivelmente 0,056% de NFOH.

[023] O lipídio líquido mencionado acima é selecionado do grupo que compreende óleo de buriti, óleo de semente de uva, mono- e diglicerídeos de ácidos graxos, principalmente, ácido cáprico/caprílico (Capmul® MCM), triglicerídeos caprílicos/cápricos (Captex® 300 e Mygliol® 812), mais preferivelmente dicaprilato/dicaprato de propilenoglicol (Mygliol® 840), preferivelmente em uma concentração de 4,0%.

[024] O lipídio sólido também mencionado acima é selecionado de estearoil polioxil-32 glicerídeos (Gelucire® 50/13), palmito-estearato de glicerila (Precirol® ATO 5), behenato de glicerila (Compritol® 888), óleo de palma hidrogenado (Dynasan® P60, Softsan® 154, Witepsol® E85), triestearina (Dynasan® P 118), lauroil polioxil/macrogol 32 glicerídeos (Gelucire® 44/10), preferivelmente Gelucire®

50/13 e Precirol® ATO 5 em uma concentração  $\leq 8\%$ .

[025] Já o agente solubilizante é selecionado de fosfolipídeos, mais preferivelmente fosfatidilcolina (Lipoid® S100), em uma concentração de 0,4%.

[026] O tensoativo utilizado na presente invenção é selecionado do grupo que compreende copolímero em bloco de poli(etileno glicol)-poli(propileno glicol)-poli(etileno glicol) (poloxamer 407®) e copolímero em bloco de poli(etilenoglicol)-poli(propilenoglicol)-poli(etilenoglicol) (Poloxamer® 188), preferivelmente copolímero em bloco de poli(etilenoglicol)-poli(propilenoglicol)-poli(etilenoglicol) (Poloxamer® 188) em uma concentração de 0,05%.

[027] Já o hidroximetilnitrofural (NFOH) é um derivado do agente antimicrobiano tópico, a nitrofurazona, que tem potencial uso no tratamento da leishmaniose. No entanto, devido à baixa solubilidade e biodisponibilidade, o NFOH tem falhado em testes *in vivo*. O carreador lipídico nanoestruturado (CLN) é uma alternativa para superar essas limitações, melhorando a farmacocinética e modificando a distribuição de fármacos.

[028] Ainda, os referidos CLNs da presente invenção são providos através de um processo de homogeneização a alta pressão, com 1 a 8 ciclos, preferivelmente cinco ciclos consecutivos, em uma pressão que varia de 100 a 1000 bar, preferivelmente a 600 bar.

[029] Adicionalmente, a presente invenção refere-se ao uso dos carreadores lipídicos nanoestruturados proporcionados pela presente invenção para preparar medicamento para o tratamento da leishmaniose. Como será

demonstrado mais adiante, a presente invenção apresentou resultados promissores, os quais demonstram que o CLN-NOFH é um potencial candidato à medicamento para administração oral para tratar a leishmaniose.

[030] Por ser para preparar um medicamento para administração oral, a presente invenção contempla qualquer forma farmacêutica que possa ser administrada pela via oral, tais, como, por exemplo, solução, comprimidos, cápsulas.

**Exemplo da invenção:**

[031] A seguir são apresentados exemplos de desenvolvimento e aplicação da presente invenção, não se limitando, entretanto, a estes.

**Seleção de lipídios líquidos**

[032] O equipamento Crystal 16™ (Crystal Pharmatech Inc., EUA) foi utilizado para determinar o lipídio líquido que solubilizou a maior quantidade de NFOH. Para o teste, 5,0 mg de NFOH foram adicionados a 1,0 g de lipídio líquido em um frasco de 2,0 mL. Os parâmetros utilizados foram: 700 rpm, a 80°C por uma hora, com rampa de aquecimento e resfriamento de 2,7°C/min. O segundo passo para a seleção foi realizado da seguinte forma: 200 mg de Lipoid® S100 (fosfatidilcolina derivado da soja) foram adicionados aos frascos anteriores, nas mesmas condições descritas acima. Os lipídios que apresentaram turbidez, de acordo com o equipamento, foram excluídos do experimento. Na terceira etapa, foi investigada a proporção otimizada de Lipoid® S100: lipídio líquido. Portanto, os lipídios líquidos selecionados e a proporção adequada de Lipoid®: lipídio líquido foram testados usando diferentes concentrações de NFOH (1,0-12,0 mg/g de lipídio). O sistema com a maior concentração do NFOH

de solubilização foi selecionado.

[033] A quantificação do NFOH foi realizada utilizando espectrofotometria UV/vis Evolution série 201 (Thermo fisher Scientific Inc., EUA) operada a 370 nm. A amostra foi preparada com a adição de NFOH em excesso ao lipídio líquido e colocada em agitação magnética a 80°C. Após 1 hora, as alíquotas foram filtradas através de uma membrana de PVDF de 0,22 µm de tamanho de poro e diluídas em acetonitrila.

[034] Na primeira triagem, nenhum dos 23 óleos testados apresentou solução 100% límpida. Na segunda seleção, o Lipoid® S100, um agente solubilizante, foi adicionado para melhorar a solubilidade do NFOH nestes óleos. O óleo de buriti, o óleo de semente de uva, o Miglyol® 840, o Capmul® MCM, o Captex® 300 e o Miglyol® 812 apresentaram 100% de solução límpida. A interação do Lipoid® S100 e dos óleos ajudou a solubilizar o NFOH. A proporção de Lipoid® S100 e lipídio líquido foi otimizada para 1:9.

[035] Para determinar se os lipídios líquidos selecionados seriam capazes de solubilizar mais do que 5,0 mg/g de NFOH, diferentes frascos com quantidade variável de NFOH (6,0 a 12,0 mg/g) foram avaliados no Crystal 16™. A quantidade máxima de NFOH solubilizado em Miglyol® 840 foi de 8,0 mg/g. Esta concentração solubilizada permanece após o resfriamento da solução. Para o Miglyol® 812, a quantidade máxima de NFOH solubilizado foi de 6,0 mg /g. A quantificação do NFOH por espectroscopia em Miglyol® 840 e Miglyol® 812 foi de 14,0 mg/g e 10,2 mg/g, respectivamente. Devido à solubilidade superior do NFOH, o Miglyol® 840 foi escolhido como o lipídio líquido para a preparação do carreador lipídico nanoestruturado.

### **Seleção de Lipídios Sólidos**

[036] A solubilidade de NFOH em lipídios sólidos foi avaliada de acordo com Kasongo et al.<sup>[20]</sup> O NFOH foi adicionado ao lipídio sólido numa concentração de 0,001% (p/p); esta preparação foi aquecida 10°C acima do ponto de fusão de cada lipídio, sob agitação constante. Aliquotas foram retiradas e observadas por um microscópio óptico Olympus CK2 (Japão); a concentração de NFOH foi ajustada até a observação dos cristais.

[037] Além disso, a solubilidade do fármaco e o comportamento de cristalização em lipídios sólidos foram realizados por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). O NFOH, lipídios sólidos, misturas físicas (MF) 1:1 e as misturas de diferentes lipídios selecionados foram caracterizados por DSC 4.000 Perkin Elmer cells (Perkin Elmer Corp., Norwalk, CT, EUA), sob uma atmosfera de N<sub>2</sub> dinâmica (50 mL/min), utilizando um recipiente de alumínio selado com cerca de 2,0 mg de amostras. As curvas DSC foram obtidas a uma taxa de aquecimento de 10°C/min, e a temperatura variou de 25 a 290°C. Um cadinho selado vazio foi usado como referência.

[038] A temperatura de início, pico máximo na faixa de fusão (T<sub>pico</sub>) e entalpia de fusão (ΔH<sub>m</sub>) foram calculados usando o software fornecido pela PerkinElmer. Os índices de cristalinidade (IC) do NFOH foram calculados em porcentagem de acordo com a seguinte Equação (1),<sup>[21,22]</sup>

$$CI (\%) = \frac{\Delta H_{NFOH MF * D}}{\Delta H_{NFOH 100\%}} * 100 \quad \text{Equação (1)}$$

onde  $\Delta H_{NFOH}$  MF é a entalpia de fusão (J/mg) de NFOH na mistura física binária de NFOH e lipídio sólido,  $\Delta H_{NFOH}$  100% é a entalpia de fusão (J/mg) do fármaco puro. D é a diluição de NFOH nos lipídios sólidos, neste caso, 1:1, D = 2.

[039] Oito lipídios sólidos foram analisados por microscopia óptica para avaliar a solubilidade do NFOH (Tabela 3). O NFOH foi solúvel em todos os lipídios testados a 1,0 mg / g, exceto no Gelucire® 44/10. Conforme a Tabela 1, a microscopia revelou que o Gelucire® 50/13 foi o único lipídio sólido a solubilizar 2,0 mg/g de NFOH. Adicionalmente, a Figura 2 mostra a microscopia óptica do NFOH em Gelucire® 50/13.

**Tabela 1. Avaliação dos cristais por microscopia óptica para ensaio de solubilidade de NFOH**

Lipídios	Solúvel em 1,0 mg/g	Solúvel em 2,0 mg/g	Ponto de fusão (°C)
Gelucire® 50/13	Sim	Sim	44-50
Precirol® ATO 5	Sim	Não	56-66
Compritol® 888	Sim	Não	70-75
Dynasan® P60	Sim	Não	58-62
Dynasan® 118	Sim	Não	72-75
Witepsol® E85	Sim	Não	42-44
Softsan® 154	Sim	Não	53-58
Gelucire® 44/10	Não	Não	44

[040] DSC apresentou o  $\Delta H_{NFOH}$  de 12800,8 (J/mg). O índice de cristalinidade (IC) de NFOH e misturas de lipídios sólidos pode ser encontrado na Tabela 2. A Figura 3 mostra as curvas Gelucire® 50/13 DSC. A mistura Gelucire® 50/13 resultou no menor IC de NFOH, de 63,5%. Quanto maior a redução no IC, melhor a capacidade do lipídio em solubilizar o fármaco.

[15] O Gelucire® 50/13 foi o melhor SL em ambos os testes. Assim, foi o SL escolhido para a preparação da nanoestrutura do portador lipídico. O Precirol® ATO 5, apresentando o segundo melhor IC (96,1%) também foi escolhido.

**Tabela 2.** Entalpia de fusão (J/mg) e índice de cristalinidade para determinação do NFOH em lipídios sólidos por DSC.

Lipídios	$\Delta H_{\text{NFOH-MF}}$ (J/mg)	IC (%)
Gelucire® 50/13	4062,0	63,5
Precirol® ATO 5	6148,3	96,1
Compritol® 888	6221,0	97,2
Witepsol® E85	6489,7	101,4
Softsan® 154	6926,8	108,2
Dynasan® 118	7171,4	112,0
Dynasan® P60	8292,7	129,6

**Preparação de carreador lipídico nanoestruturado contendo NFOH (CLN-NFOH)**

[041] Para todas as formulações foram preparadas 50,0 g da formulação do lipídio líquido, lipídios sólidos e poloxâmico 188 selecionado. A fase aquosa e fase oleosa foram aquecidas a 80°C utilizando um agitador magnético básico IKA® RTC (Alemanha) a 300 rpm até a completa dissolução. Em seguida, a fase aquosa foi dispersa na fase oleosa e misturada por um homogeneizador mecânico a 8000 rpm (Ultraturrax, IKA, Alemanha) durante 5 minutos. A emulsão foi passada através de homogeneização de alta pressão usando Nano DeBEE® (BEE International, Inc. EUA) usando 1 a 8 ciclos, preferivelmente cinco ciclos sucessivos, de 100 a 1000 bar, preferivelmente 600 bar.

**Diâmetro hidrodinâmico médio (DHM), índice de polidispersão (IP) e potencial zeta (PZ)**

[042] O DHM dos CLN foi avaliado por espectroscopia de correlação de fótons (PCS) usando Zetasizer ZS90 (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido) a 25°C e ângulo de detecção de 90°. O equipamento também foi usado para medir o PZ. As medições de PZ foram realizadas em água purificada com uma condutividade ajustada a 50  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  pela adição de NaCl a 0,2% (p/v), para evitar flutuações de PZ causadas pela diferença de condutividade (n = 3). O pH das formulações foi determinado utilizando um equipamento de pH (Seven Excellence, Mettler Toledo® Inc, Estados Unidos) previamente calibrado a 20°C. O tamanho de partícula do CLN-NFOH otimizado também foi determinado pelo analisador de tamanho de partícula baseado em laser CILAS 1090 (Orleans, França) em meio aquoso.

**Determinação da eficiência de encapsulação (EE%)**

[043] O CLN-NFOH foi ultrafiltrado utilizando filtros para centrífuga de 50 kDa de membrana Amicon Ultra-0,5 mL Ultracel-10 (Millipore Merck, USA). Em seguida, o filtro foi centrifugado a 590g durante 30 min. O sobrenadante e o filtrado foram diluídos adequadamente e analisados para NFOH em método espectrofotométrico como descrito anteriormente. A EE% foi determinado usando a equação (2).

$$EE\% = \frac{W_{total} - W_{free}}{W_{total}} \times 100 \quad \text{Equação (2)}$$

Onde  $W_{total}$  é o peso inicial de NFOH adicionado,  $W_{free}$  é o peso de NFOH livre detectada no filtrado após a centrifugação.

**Desenvolvimento e otimização de NLC**

[044] Um experimento de vértice extremo, com delineamento estatístico de cinco fatores, grau 3, mistura D-Optimal de dois níveis, foi utilizado para avaliar os efeitos da concentração de lipídios e tensoativo no DHM do CLN usando o software Minitab® 18 (State College PA, EUA). A Tabela 3 descreve a restrição usada para projetar o modelo matemático. As variáveis independentes são mostradas na Tabela 4 e a variável dependente (resposta) foi DHM. Um total de 45 experimentos foram projetados pelo Minitab 18 (Tabela 5).

[045] A Figura 4 mostra o fluxograma do desenvolvimento do CLN-NFOH. Nesse fluxograma é demonstrado que as formulações investigadas estão dentro de uma faixa específica para cada componente. Fora dessa faixa específica, as formulações se apresentaram gelificadas, com DHM maior que 1000 nm. Portanto, essas fórmulas gelificadas não estão na escala nanométrica.

**Tabela 3.** Restrições utilizadas para a construção do experimento de vértice extremos.

<b>Restrições</b>	<b>Valores (% m/m)</b>
Gelucire® 50/13	2,0 to 5,0
Precirol® ATO 5 + Miglyol® 840	≤ 8,0

**Tabela 4.** Variáveis e nível do experimento de vértice extrema no desenvolvimento de CLN-NFOH.

<b>Variáveis Independentes</b>	<b>Nível</b>	
	<b>-1</b>	<b>+1</b>
Gelucire® 50/13 (Gel)	2,0	5,0
Precirol® ATO 5 (Prec)	0,0	7,0

Miglyol® 840 (Mig)	2,0	9,0
Poloxamer® 188 (Pol)	0,0	3,0
Água	86,0	90,0

[046] As restrições foram determinadas em um estudo preliminar (Tabela 3). Observou-se um fenômeno de gelificação em uma mistura composta por Precirol® ATO 5 e Miglyol® 840 na proporção de 4:1. No entanto, quando Gelucire® 50/13 foi adicionado a esta mistura, a gelificação não foi observada. A adição de tensoativos também pode evitar a gelificação. [23] Assim, Gelucire® 50/13 foi adicionado a todas as formulações de design estatístico. O DHM variou de 100,9 nm a 294,0 nm e PDI de 0,12 a 0,66. O DHM para todas as execuções experimentais está resumido na Tabela 5.

**Tabela 5.** Matriz experimental de experimento de vértice extremo, com 5 fatores, grau 3 e dois níveis D-ótimo e valores de DHM e PDI do CLN-NFOH.

	Gelucire® 50/13	Precirol® ATO 5 (% m/m)	Miglyol® 840 (% m/m)	Poloxamer® (% m/m)	Água (%m/m)	DHM (nm)	IP
1	2.00	0.00	8.00	0.00	90.00	140.4	0.19
2	2.00	7.00	2.00	3.00	86.00	191.1	0.23
3	5.00	3.00	2.00	0.00	90.00	115.0	0.15
4	5.00	0.00	6.00	3.00	86.00	131.6	0.16
5	2.00	3.50	5.50	0.00	89.00	208.9	0.12
6	2.00	3.00	5.00	3.00	87.00	164.6	0.45
7	2.00	0.00	9.00	3.00	86.00	178.4	0.20
8	2.00	6.00	2.00	0.00	90.00	250.9	0.29
9	5.00	4.00	2.00	3.00	86.00	153.1	0.31
10	3.50	0.00	7.50	1.50	87.50	142.0	0.19
11	3.50	5.50	2.00	0.00	89.00	201.7	0.16
12	5.00	0.00	5.00	3.00	87.00	138.8	0.17
13	3.50	4.50	2.00	3.00	87.00	111.4	0.24
14	5.00	0.00	6.00	0.00	89.00	100.9	0.17
15	2.00	0.00	9.00	0.00	89.00	138.2	0.18
16	2.00	6.00	2.00	1.50	88.50	188.5	0.78
17	2.00	3.50	5.50	3.00	86.00	182.3	0.42
18	2.00	7.00	2.00	0.00	89.00	294.0	0.27
19	2.75	4.75	3.25	2.25	87.00	163.1	0.66

20	3.50	0.00	7.00	0.00	89.50	118.5	0.18
21	2.00	0.00	8.50	1.50	88.00	155.4	0.19
22	5.00	0.00	5.00	0.00	90.00	102.3	0.13
23	2.00	6.00	2.00	3.00	87.00	158.7	0.17
24	2.75	1.25	6.75	2.25	87.00	134.2	0.13
25	2.00	0.00	8.00	3.00	87.00	178.0	0.16
26	2.00	7.00	2.00	1.50	87.50	210.4	0.27
27	2.00	6.50	2.00	0.00	89.50	274.6	0.31
28	4.25	2.75	3.25	2.25	87.50	143.4	0.21
29	5.00	3.50	2.00	0.00	89.50	131.2	0.15
30	5.00	4.00	2.00	1.50	87.50	117.7	0.19
31	2.75	4.25	3.25	0.75	89.00	179.8	0.43
32	4.25	3.25	3.25	0.75	88.50	127.3	0.17
33	3.50	0.00	7.00	3.00	86.50	161.2	0.18
34	5.00	3.00	2.00	3.00	87.00	153.6	0.22
35	2.00	3.00	5.00	0.00	90.00	218.8	0.16
36	5.00	2.00	4.00	0.00	89.00	144.7	0.30
37	2.00	6.50	2.00	3.00	86.50	183.2	0.18
38	5.00	1.75	3.75	3.00	86.50	145.6	0.19
39	3.50	4.50	2.00	0.00	90.00	192.1	0.13
40	2.75	1.25	6.25	0.75	89.00	130.4	0.19
41	5.00	3.00	2.00	1.50	88.50	164.4	0.29
42	5.00	0.00	5.50	1.50	88.00	118.0	0.15
43	3.50	5.50	2.00	3.00	86.00	136.0	0.39
44	3.50	0.00	6.50	1.50	88.50	144.1	0.17
45	3.50	2.75	4.75	3.00	86.00	121.9	0.19

NFOH: hidroximetilnitrofural; IP: Índice de polidispersão

**Tabela 6.** Análise de variância para DHM

Fonte de Variação	GL	SS (adj)	MS (adj )	F- value	p- valu e
<b>Modelo</b>	8	7151	8939	38.5	0.00
<b>Linear</b>	4	2254	5635	24.2	0.00
<b>Gelucire® 50/13* Precirol® ATO 5</b>	1	4567	4567 .1	19.6 8	0.00 1
<b>Gelucire® 50/13* Miglyol® 840</b>	1	1923	1923 .0	8.29	0.00 7
<b>Precirol® ATO 5* Poloxamer® 188</b>	1	1256 9	1256 9.1	54.1 6	0.00 1

<b>Gelucire® 50/13* Precirol® ATO 5* Poloxamer® 188</b>	1	1925	1929	8.25	0.00
			.5		7
<b>Error</b>	36	8355	232.	-	-
<b>Total SS</b>	44	7987	-	-	-
		4			
<b>S= 15.2345</b>	$R^2 = 89,54\%$	$Adj-R^2 = 87,21$		$Pred-R^2 = 83,67\%$	

GL = Grau de liberdade, SS = soma sequenciais de quadrados; MS = quadrados médios sequenciais, F-Value = valor F de distribuição, p-Value = ajuste lack-of-fit, S = erro padrão da regressão,  $R^2$ = coeficiente de correlação múltipla,  $adj-R^2$ = coeficiente de correlação múltipla ajustado,  $pred-R^2$ = coeficiente de correlação de predição.

[047] O  $R^2$ ,  $R^2$  ajustado ( $adj-R^2$ ) e o  $R^2$  de predição ( $pred-R^2$ ) foram, respectivamente, 89,54%, 87,21% e 83,67% (Tabela 4). O gráfico de probabilidade normal dos resíduos foi linear, revelando um comportamento normalmente distribuído. O modelo linear foi significativo ( $p < 0,05$ ;  $\alpha = 0,05$ ) (Tabela 6). O modelo matemático (Equação 3) mostrou a influência de variáveis independentes para DHM. A interação de Gelucire® 50/13 + Precirol® ATO 5, Gelucire® 50/13 + Miglyol® 840 e Precirol® ATO 5 + Poloxamer® 188 mostrou sinergia ajudando a diminuir o DHM. A mistura dos três compostos, Gelucire® 50/13 + Precirol® ATO 5 + Poloxamer® 188, apresentou resposta oposta, aumentando significativamente o DHM. A Tabela 7 mostra as formulações otimizadas com DHM menor que 200 nm (distribuição monomodal), que verificou a validade do modelo matemático. Os gráficos de contorno são apresentados na

Figura 5. A EE% de F1 e F2 foi de 58,8% e 61,7%, respectivamente.

$$Z - average = +3210 * Gel + 4970 * Prec + 2216 * Mig + 1124 * Pol - 8.4 * Water - 98856 * Gel * Prec - 60703 * Gel * Mig - 98279 * Prec * Pol + 1351126 * Gel * Prec * Pol$$

**Pol Equação (3)**

**Tabela 7.** Formulações otimizadas F1 e F2: diâmetro hidrodinâmico médio (DHM) predito e observado, índice de polidispersão (IP) e potencial zeta (PZ).

	<b>F1</b> <b>(% m/m)</b>	<b>F2</b> <b>(% m/m)</b>
<b>Gelucire® 50/13</b>	4,70	2,30
<b>Precirol® ATO 5</b>	2,45	3,70
<b>Miglyol® 840</b>	3,00	4,00
<b>Poloxamer® 188</b>	1,00	0,00
<b>Água</b>	88,85	90,00
<b>DHM observado (nm) ± DP</b>	135,3 ± 2,1	198,6 ± 5,4
<b>DHM predito (nm)</b>	134,9	198,7
<b>IP ± DP</b>	0,23 ± 0,02	0,11 ± 0,01
<b>PZ (mV) ± DP</b>	-13,7 ± 0,9	-13,7 ± 0,7
<b>pH</b>	4,92	4,98

DP: desvio padrão; F1: 42,0mg de NFOH; F2: 56,0mg de NFOH

[048] O tamanho de partícula F2 também foi determinado usando um analisador de tamanho de partícula baseado em laser. A Figura 6 mostrou as bandas de tamanho de F2. O diâmetro de 50%,  $d(50)$ , foi de 210 nm.

**Determinação de NFOH no plasma**

[049] O CLN-NFOH (2,8 mg / kg) foi administrado a um rato Wistar macho saudável (341 g) por gavagem. Após 5h o sangue da veia carótida foi coletado. Uma amostra de sangue foi coletada em tubos de heparina (10 µL, 500 UI/mL). As amostras

de plasma foram obtidas imediatamente por centrifugação a 8000 rpm por 10 min, e armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até análise posterior por HPLC. [24] Amostras de plasma (200  $\mu\text{L}$ ) foram misturadas com acetonitrila (200  $\mu\text{L}$ ), para precipitar proteínas, então centrifugadas em 10000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi transferido para um vial e analisado em HPLC.

[050] A quantificação de NFOH no plasma foi realizada de acordo com Monteiro et al. [9] O sistema Shimadzu HPLC-UV consistiu de um controlador CBM-20A, bomba LC-20AT, detector SPD-20A, amostrador SIL-20AC e software *LC Solution* (versão 1.25SP4) foi aplicado para coleta e processamento de dados. A separação cromatográfica foi realizada em coluna de HPLC Zorbax SB-C18, 5  $\mu\text{m}$ , (4,6x150 mm). A fase móvel consistiu em acetonitrila: água (20:80), fluxo de 1,2 ml/min e detector de UV a 265 nm. O volume de injeção foi de 20  $\mu\text{l}$ . O método foi linear ( $r = 0,9997$ ) no intervalo de concentração de 10 - 0,1  $\mu\text{g} / \text{mL}$ .

[051] A concentração plasmática de NFOH após 5 horas de administração oral em rato foi de 0,22  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . O tempo de retenção de NFOH foi de 2,6 minutos para a solução de NFOH e NFOH no plasma (Figura 7).

[052] Assim, foi possível obter uma concentração plasmática semelhante utilizando uma dose quase 100 vezes menor. Este resultado preliminar indica que o CLN pode melhorar a absorção oral de NFOH.

[053] Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidas no escopo das reivindicações anexas.

**Referências:**

1. de Souza A, Marins DSS, Mathias SL, et al (2018) Promising nanotherapy in treating leishmaniasis. Int J Pharm 547:421-431.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.06.018>
2. World Health Organization (2015) Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases: third report on neglected diseases 2015. 1-211.
3. Marquede-Oliveira F, Torres EC, Barud H da S, et al (2016) Physicochemical characterization by AFM, FT-IR and DSC and biological assays of a promising antileishmania delivery system loaded with a natural Brazilian product. J Pharm Biomed Anal 123:195-204.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.01.045>.
4. World Health Organization (2010) Control of the leishmaniases: report of a meeting of the WHO expert committee on the control of leishmaniases. World Health Organization, Geneva.
5. Chung MC, Carvalho Guido RV, Favarato Martinelli T, et al (2003) Synthesis and in vitro evaluation of potential antichagasic hydroxymethylnitrofurazone (NFOH-121): A new nitrofurazone prodrug. Bioorganic Med Chem 11:4779-4783. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2003.07.004>.
6. Monteiro LM, Löbenberg R, Ferreira EI, et al (2017) Targeting Leishmania amazonensis amastigotes through macrophage internalisation of a hydroxymethylnitrofurazone nanostructured polymeric system. Int J Antimicrob Agents 50:88-92.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.01.033>.
7. Serafim EOP, De Albuquerque E Silva AT, De Haro Moreno

- A, et al (2013) Pharmacokinetics of hydroxymethylnitrofurazone, a promising new prodrug for chagas' disease treatment. *Antimicrob Agents Chemother* 57:6106-6109. <https://doi.org/10.1128/AAC.02522-12>.
8. Bosquesi PL, Almeida AE, Blau L, et al (2008) Toxicidade de fármacos nitrofurânicos. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 29:231-238.
  9. Monteiro LM, Tavares GD, Ferreira EI, et al (2015) Reverse phase high-performance liquid chromatography for quantification of hydroxymethylnitrofurazone in polymeric nanoparticles. *Brazilian J Pharm Sci* 51:561-568. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502015000300008>.
  10. Beloqui A, Solinís MÁ, Rodríguez-Gascón A, et al (2016) Nanostructured lipid carriers: Promising drug delivery systems for future clinics. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med* 12:143-161. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.09.004>.
  11. Liu L, Jiang C (2017) Drug Delivery Strategies Based on Nanotechnology for Cancer Immunotherapy. *Curr Org Chem* 21:34-44. <https://doi.org/10.2174/1385272820666160511121>
  12. Zulfiqar B, Mahroo A, Nasir K, et al (2017) Nanomedicine and cancer immunotherapy: focus on indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors. *Onco Targets Ther* 10:463-476. <https://doi.org/10.2147/OTT.S119362>.
  13. Poonia N, Kharb R, Lather V, Pandita D (2016) Nanostructured lipid carriers: versatile oral delivery vehicle. *Futur Sci OA* 2:FSO135. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2016-0030>.
  14. Naseri N, Valizadeh H, Zakeri-milani P (2015) Solid

- Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers : Structure , Preparation and Application. Tabriz Univ Med Sci 5:305-313. <https://doi.org/10.15171/apb.2015.043>.
15. Monteiro LM, Löbenberg R, Cotrim PC, et al (2017) Buparvaquone Nanostructured Lipid Carrier : Development of an Affordable Delivery System for the Treatment of Leishmaniases. Biomed Res Int 2017:1-11. <https://doi.org/10.1155/2017/9781603>.
  16. Negi LM, Jaggi M, Talegaonkar S (2014) Development of protocol for screening the formulation components and the assessment of common quality problems of nano-structured lipid carriers. Int J Pharm 461:403-410. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2013.12.006>.
  17. Tamjidi F, Shahedi M, Varshosaz J, Nasirpour A (2013) Nanostructured lipid carriers (NLC): A potential delivery system for bioactive food molecules. Innov Food Sci Emerg Technol 19:29-43. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2013.03.002>.
  18. Yukuyama MN, Kato ETM, de Araujo GLB, et al (2019) Olive oil nanoemulsion preparation using high-pressure homogenization and d-phase emulsification - A design space approach. J Drug Deliv Sci Technol 49:622-631. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.12.029>.
  19. Jain K, Sood S, Gowthamarajan K (2015) Optimization of artemether-loaded NLC for intranasal delivery using central composite design. Drug Deliv 22:940-954. <https://doi.org/10.3109/10717544.2014.885999>.
  20. Kasongo WK, Pardeike J, Müller RH., Walker RB (2011) Selection and Characterization of Suitable Lipid Excipients for use in the Manufacture of Didanosine-

- Loaded Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers. *J Pharm Sci* 100:5185-5196.
21. Souto EB, Müller RH (2005) SLN and NLC for topical delivery of ketoconazole. *J Microencapsul* 22:501-510. <https://doi.org/10.1080/02652040500162436>.
  22. Freitas C, Müller RH (1999) Correlation between long-term stability of solid lipid nanoparticles (SLN™) and crystallinity of the lipid phase. *Eur J Pharm Biopharm* 47:125-132. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(98\)00074-5](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(98)00074-5).
  23. Souto EB, Almeida AJ, Müller RH (2007) Lipid nanoparticles (SLN®, NLC®) for cutaneous drug delivery: Structure, protection and skin effects. *J. Biomed. Nanotechnol.* 3:317-331.
  24. Kimura E, Bersani-Amado CA, Sudo LS, et al (1997) Pharmacokinetic profile of piroxicam  $\beta$ -cyclodextrin, in rat plasma and lymph. *Gen Pharmacol* 28:695-698. [https://doi.org/10.1016/S0306-3623\(96\)00362-X](https://doi.org/10.1016/S0306-3623(96)00362-X).

**REIVINDICAÇÕES**

1. Carreador lipídico nanoestruturado, **caracterizado** pelo fato de que compreende:

- a) 2,0 a 9,0% de pelo menos um lipídio líquido;
- b) de 0,00 a 7,00% de pelo menos um lipídio sólido;
- c) de 0,2 a 0,9% de pelo menos um agente solubilizante;
- d) de 0,00 a 3,00% de pelo menos um tensoativo e
- e) de 0,028% a 0,126 %, preferivelmente 0,056 % de NFOH.

2. Carreador lipídico nanoestruturado, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o lipídio líquido é selecionado do grupo que compreende óleo de buriti, óleo de semente de uva, mono- e diglicerídeos de ácidos graxos, principalmente, ácido cáprico/caprílico (Capmul® MCM), triglicerídeos caprílicos/cápricos (Captex® 300 e Mygliol® 812), mais preferivelmente dicaprilato/dicaprato de propilenoglicol (Mygliol® 840).

3. Carreador lipídico nanoestruturado, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado** pelo fato de que o lipídio líquido está preferivelmente em uma concentração de 4,0%.

4. Carreador lipídico nanoestruturado, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o lipídio sólido é selecionado de estearoil polioxil-32 glicerídeos (Gelucire® 50/13), palmito-estearato de glicerila (Precirol® ATO 5), behenato de glicerila (Compritol® 888), óleo de palma hidrogenado (Dynasan® P60, Softsan® 154, Witepsol® E85), triestearina (Dynasan® P 118), lauroil polioxil/macrogol 32 glicerídeos (Gelucire® 44/10), preferivelmente Gelucire® 50/13 e Precirol® ATO 5.

5. Carreador lipídico nanoestruturado, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado** pelo fato de que o lipídeo

sólido está preferivelmente em uma concentração  $\leq 8\%$ .

6. Carreador lipídico nanoestrutura, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o agente solubilizante é selecionado de fosfolipídeos, mais preferivelmente fosfatidilcolina (Lipoid® S100).

7. Carreador lipídico nanoestruturado, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizado** pelo fato de que o agente solubilizante está preferivelmente em uma concentração de 0,4%.

8. Carreador lipídico nanoestruturado, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o tensoativo é selecionado do grupo que compreende copolímero em bloco de poli(etileno glicol)-poli(propileno glicol)-poli(etileno glicol) (poloxamer 407®) e copolímero em bloco de poli(etilenoglicol)-poli(propilenoglicol)-poli(etilenoglicol) (Poloxamer® 188) preferivelmente copolímero em bloco de poli(etilenoglicol)-poli(propilenoglicol)-poli(etilenoglicol) (Poloxamer® 188).

9. Carreador lipídico nanoestruturado, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado** pelo fato de que o tensoativo está em uma concentração preferida de 0,05%.

10. Carreador lipídico nanoestruturado, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que apresenta um DHM de  $198,6 \pm 5,4$  nm, um índice de polidispersão de  $0,11 \pm 0,01$ , um potencial zeta de  $-13,7 \pm 0,7$  e uma concentração plasmática de NFOH de 0,22 µg/mL.

11. Carreador lipídico nanoestruturado, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que é obtido por um processo de homogeneização a alta pressão, com 1 a 8 ciclos, preferivelmente cinco ciclos consecutivos, em uma

pressão que varia de 100 a 1000 bar, preferivelmente a 600 bar.

12. Uso do carreador lipídico nanoestruturado, conforme definido nas reivindicações 1 a 11, **caracterizado** pelo fato de que é na preparação de um medicamento para o tratamento da leishmaniose.

13. Uso, de acordo com a reivindicação 13, **caracterizado** pelo fato de que o referido medicamento é para administração oral.

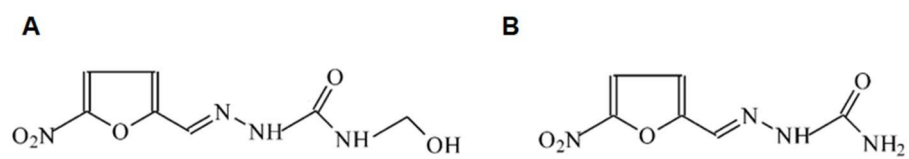


Figura 1

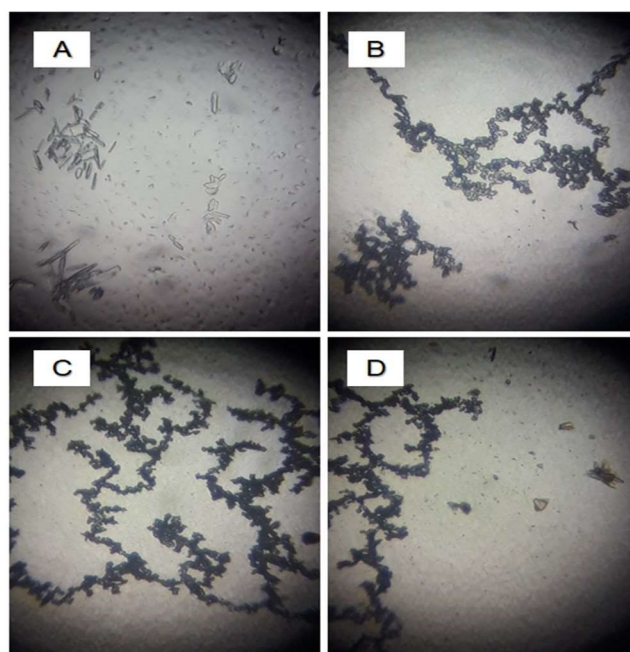


Figura 2

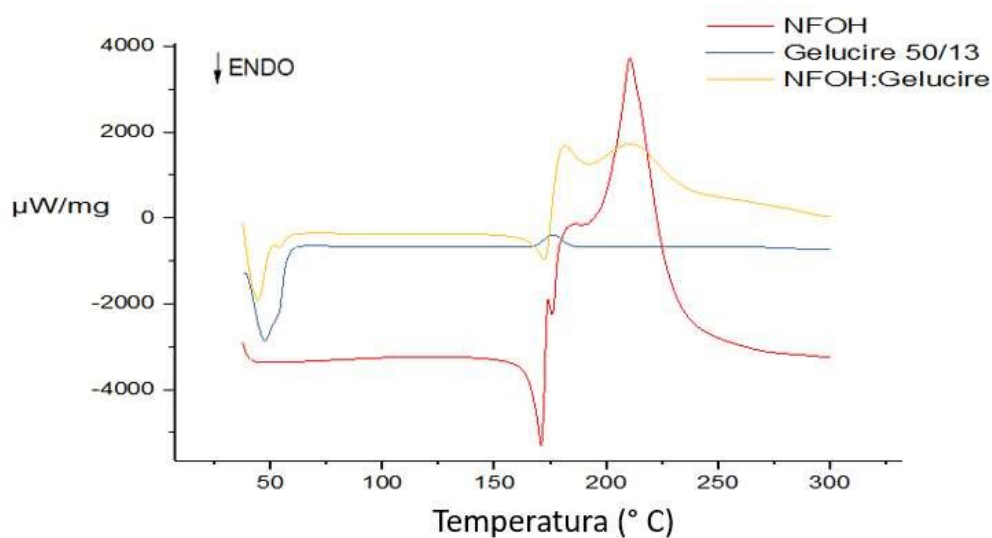


Figura 3

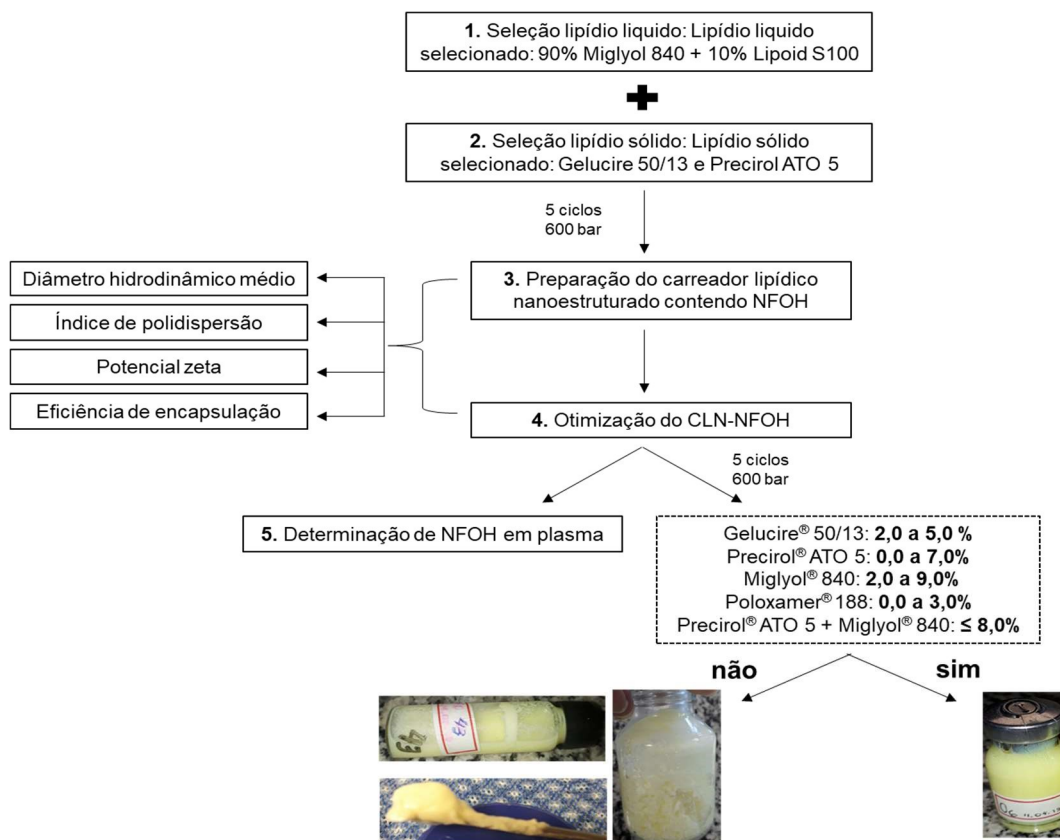


Figura 4

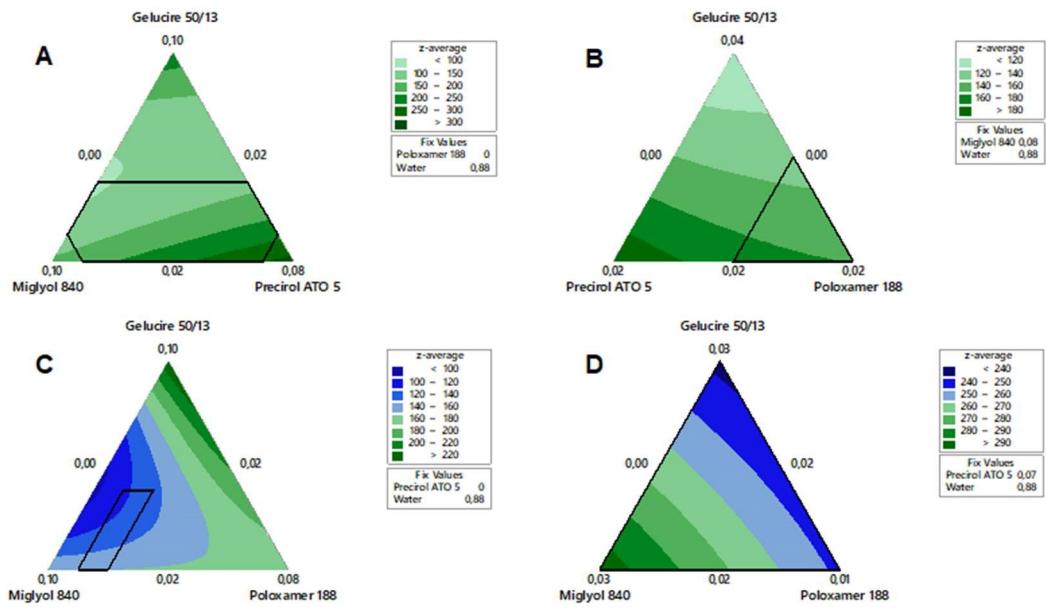


Figura 5

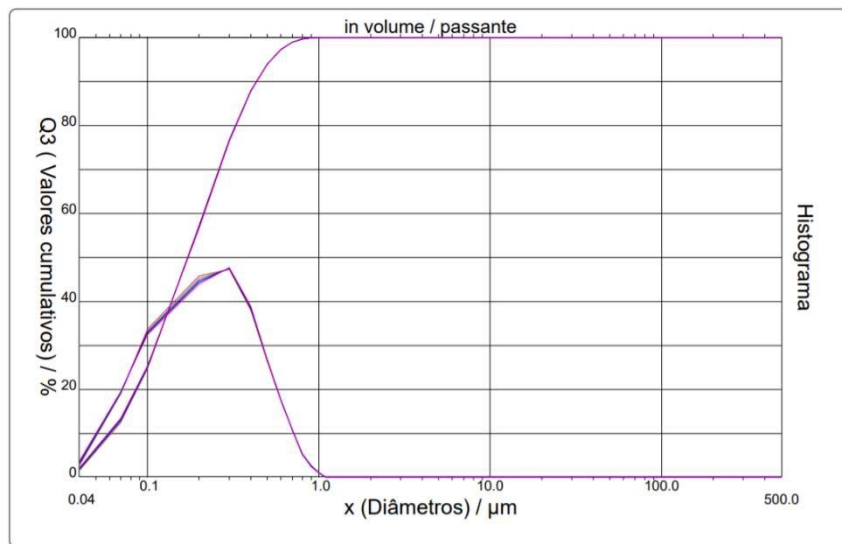


Figura 6

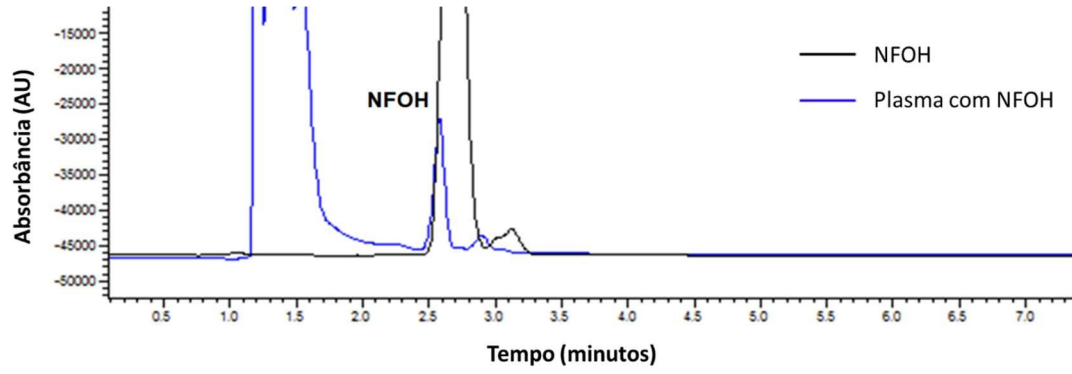


Figura 7

Resumo

**CARREADOR LIPÍDICO NANOESTRUTURADO COMPREENDENDO  
HIDROXIMETILNITROFURAL E SEU USO PARA O PREPARO DE UM  
MEDICAMENTO PARA TRATAR LEISHMANIOSE**

A presente invenção se insere no campo da nanotecnologia, mais particularmente ela se refere a carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) compreendendo hidroximetilnitrofural (NFOH) no tratamento da Leishmaniose.

Mais particularmente, a presente invenção revelou um CLN-NFOH estável, cuja concentração de NFOH menor no plasma em ratos após a administração oral apresentou resultados promissores, sendo o CLN-NFOH, portanto, considerado um potencial candidato para o preparo de medicamento oral para tratar leishmaniose.