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

(21) PI 1015731-0 A2

(22) Data do Depósito: 15/10/2010

(43) Data da Publicação: 08/12/2015
(RPI 2344)

(54) Título: COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS UTILIZANDO EXTRATOS DE BOWDICHIA VIRGILIOIDES KUNTH

(51) Int. Cl.: A61K 36/48; A61P 17/02

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL

(72) Inventor(es): EMILIANO DE OLIVEIRA BARRETO, ISABELA KARINE RODRIGUES AGRA, JAMYLLE NUNES DE SOUZA FERRO

(57) Resumo: COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS UTILIZANDO EXTRATOS DE BOWDICHIA VIRGILIOIDES KUNTH. A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica pra cicatrização de feridas utilizando extratos Bowdichia virgilioides kunth, compreende a aplicação de extratos, principalmente alcoólicos, hidroalcoólicos e aquosos das cascas, entrecascas, dos caules de Bowdichia virgiloides conhecida com nome popular de sucupira-preta utilizado para cicatrização de tecido cutâneo.

"COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS UTILIZANDO EXTRATOS DE *Bowdichia virgilioides* KUNTH"

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se à aplicação de extratos, principalmente o aquoso, alcoólico e hidroalcoólico das cascas dos caules, da entrecasca, de folhas e de sementes de *Bowdichia virgilioides*, isoladamente ou em mistura de diferentes proporções destes produtos e/ou junto a(s) extrato(s) de outras fontes naturais e/ou sintéticas, usado(s) para compor preparação de composições farmacêuticas, em particular nas apresentações para uso tópico, em forma de loções, pomadas, cremes, géis, sprays e aerossóis, utilizadas para tratamento de feridas de pele, compreendendo formulações contendo os mencionados extratos, frações desses materiais e/ou constituinte(s) químico(s), usados como princípios ativos e/ou excipiente farmacológico.

A pele serve como uma barreira protetora contra agentes do ambiente, e a perda da integridade cutânea, e a ausência de uma reparação adequada, podem proporcionar deficiências sistêmicas graves ou mesmo morte. A cicatrização é um processo ordenado de reparo que ocorre após lesão desencadeada por estímulos de diferentes naturezas. A cicatrização ocorre em 3 fases: proliferação, inflamação e remodelação. Assim, as feridas exigem cuidados intensivos com a limpeza para evitar crescimento bacteriano, formação de tecido de granulação exuberante e retração excessiva da cicatriz. A possibilidade de interferir positivamente no processo cicatricial pode significar um ganho na qualidade de vida dos pacientes, além de redução de custo nos cuidados dispensados e na melhora da qualidade final do processo regenerativo. Apesar de existirem medicamentos disponíveis para o tratamento de feridas cutâneas, o custo e as reações adversas ao paciente mostram-se como fatores que limitam ao uso.

Sobre a *Bowdichia virgilioides*

Bowdichia virgilioides, conhecida popularmente como sucupira-preta, é uma árvore encontrada nas regiões norte, nordeste e centro-oeste brasileiras. A planta possui casca grossa e fendilhada atinge até 20 metros de altura, apresentando tronco com diâmetro próximo a 60 centímetros. Apresenta folhas compostas, pinadas, com folíolos pubescentes. As flores, com corola lilás conferem um

aspecto ornamental e apícola à árvore, que floresce entre os meses de outubro e dezembro. Os frutos são legumes, indeiscentes, achatados, contendo sementes com 3-5 mm de comprimento, apresentando coloração amarronzada. A etnofarmacologia revela à utilização do decocto ou infusão das sementes no combate a inflamação na garganta e reumatismo (Alves, 2007; p.186, Revista Eletrônica de Farmácia). Trabalhos encontrados na literatura descrevem que as cascas do caule de *Bowdichia virgilioides* apresentam a constituição química composta por isoflavonóides, alcalóides e terpenos.

Estado da Técnica

Os tratamentos das lesões cutâneas incluem o uso de medicamentos em diferentes tipos de formulações, variando em pós, loções, cremes, géis, pastas, pomadas, sprays, aerosóis, etc. Independente do tipo de medicamento, o tratamento das lesões tem grande importância clínica devido ao tempo de resolução, desconforto causado e necessidade de cuidados diários que apresentam. Além disso, os medicamentos disponíveis além de poderem apresentar potencial irritação a períodos de exposição prolongados, tem no preço outro fator que limita o acesso ao produto. Dentre os medicamentos disponíveis, a seguir temos os mais usados para cicatrização de feridas cutâneas: **a) Fibrase®**: é indicada no tratamento de lesões cutânea, tais como queimaduras, úlceras e feridas onde a dupla ação como agente debridante e antibiótico tópico. Para este medicamento já foram relatados casos de hipoplasia da medula óssea, incluindo anemia aplástica e morte. **b) Dermazine®**: possui em sua composição Sulfadiazina de Prata 1% micronizada com mecanismo de ação sobre a membrana celular e parede celular microbiana, promovendo o enfraquecimento destas, com conseqüente rompimento da célula, estando aí o seu efeito bactericida. Como desvantagem pode destacar sua pouca absorção nos tecidos humanos, além de que quando usado em áreas muito extensas de superfície corporal, a monitoração dos níveis séricos da Sulfa e da função renal tornam-se relevantes. Em adição, algumas das reações adversas usualmente vistas com sulfonamida sistêmica (síndrome de Stevens-Johnsos, síndrome de Lyell´s, driscrasia e cristaluria) podem ocorrer durante terapia com Dermazine, embora raras tenham sido relatadas e depende da porcentagem de superfície corporal em que Dermazine é aplicado e a profundidade do tecido lesado.

Sumário da Invenção

Pelo exposto, constata-se a necessidade de disponibilidade de medicamentos alternativos para tratamentos das lesões cutâneas com propósito de acelerar o processo cicatricial. Para tanto, são apresentados através desse instrumento de propriedade industrial os produtos fitoterápicos que incluem em sua formulação os princípios ativos cascas do caule, da entrecasca, de folhas e de sementes de *Bowdichia virgilioides* (sucupira). Os produtos desenvolvidos foram avaliados em testes pré-clínicos, cujos resultados terapêuticos representam uma alternativa inovadora para acelerar a cicatrização de feridas cutâneas, como pode ser observado na tabela 1 que evidencia a redução da área da ferida em 6 e 9 dias após lesão e o tempo (em dias) de epitelização da ferida.

Tabela 1. Efeito do extrato de *Bowdichia virgilioides* sobre a cicatrização de feridas.

Tratamento	Parâmetro		
	Área (cm^2) da ferida no dia		Tempo de epitelizaçã
	6	9	(dias)
Salina	1.48 ± 0.11	1.11 ± 0.08	13.00 ± 0.00
Fibrase®	1.40 ± 0.09	0.52 ± 0.08 ***	10.75 ± 0.5 **
Sucupira	0.75 ± 0.06 *** [a]	0.18 ± 0.03 *** [b]	9.60 ± 0.33 *** [c]

Valores representam a media ± Erro Padrão da Média. As diferenças estatísticas foram determinadas pelo teste ANOVA seguido do teste de Student-Newman-Keuls. ***P<0.001, **P<0.01 quando comparado ao respectivo grupo tratado com salina. [a]P<0.001 quando comparado ao grupo tratado com Fibrase®.

Diferente das soluções presentes no estado da técnica o uso de formulações de *Bowdichia virgilioides* na cicatrização de feridas, traz as seguintes vantagens: ausência de efeitos colaterais, facilidade de auto-aplicação, uso sem restrições para crianças, adultos e mulheres gestantes, baixo custo, devido principalmente a ma

téria prima ser facilmente encontrada na flora nacional, além da vantagem que a mesma pode ser usada internamente, ou seja, por via oral sem oferecer riscos de efeitos colaterais. Conforme mostrado na tabela 2.

Tabela 2. Comparação entre o extrato de *Bowdichia virgilioides* e outro produto disponível no marcado nacional usado para cicatrização.

Produto	Via de administração	Epitelização em feridas de 1 cm^2	Obtenção da matéria prima
Fibrase®	Tópico	Aproximadamente 11 dias	Importado
Extrato de *B. virgilioides*	Tópico, oral, entérico	Aproximadamente 9 dias	Flora nacional

Descrição Detalhada da Patente

Exemplo de Obtenção do extrato: Prepara-se a infusão ou decocto com 50 gramas de casca do caule de *Bowdichia virgilioides* moída e seca a temperatura ambiente em 300 mililitros de água. Após repouso de 12 horas a temperatura ambiente o produto é filtrado em papel (Watman no. 2) e o filtrado concentrado em liofilizador.

Exemplo: de Preparação da formulação em creme

Para esta formulação usou-se o creme aniônico, uma composição de ceras auto-emusionantes, propilenoglicol, triglicérides do ácido cáprico, metilparabenos, propilparabenos, imidazolidinil uréia, dimeticone, BHT, EDTA dissódico e água deionizada. A formulação é preparada aquecendo a fase oleosa a 75°C e a fase aquosa a 80°C. Verteu-se a fase aquosa à fase oleosa, sob agitação vigorosa. Em seguida, diminuiu-se a agitação e resfrio-se a aproximadamente 40°C. Posteriormente, adicionou-se a fase complementar, homogeneizou-se e resfriou-se até atingir a temperatura ambiente. Verificou-se o pH e corrigiu-o para 5,5 a 6,5, com o auxílio das soluções acidulantes ou alcalinizantes. O creme obtido, pronto para uso, foi então transferido para recipientes contendo formulações de 1 a 10% (p/p) do principio ativo.

Coleta do material botânico

O extrato aquoso de *Bowdichia virgilioides* foi obtido a partir das cascas do caule. Coletaram-se cascas de caules de plantas sadias de *Bowdichia virgilioides* no Arboreto do Campus A.C. Simões, UFAL, Maceió – AL em diferentes meses do ano (março, junho, setembro e dezembro). Um exemplar da planta *Bowdichia virgilioides* Kunth encontra-se no herbário do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas (IMA-AL) sob o registro **MAC29914**.

Testes toxicológicos

Os testes toxicológicos foram realizados com camundongos da espécie *Mus musculus.*

A avaliação da atividade tóxica do extrato aquoso utilizou 20 camundongos da espécie *Mus musculus,* adultos e sadios, machos e fêmeas. Os animais foram pesados em balança semi-analítica (0,001g) e divididos em 5 grupos, sendo todos os tratamentos realizados por via oral em um volume de 200 µL por animal. Os animais do grupo 1 receberam o extrato aquoso de *Bowdichia virgilioides*, ressuspendido em água na dose de 0,4 $g.kg^{-1}$ de peso corpóreo. No 2° grupo a dose foi de 0,2 $g.kg^{-1}$ de peso corpóreo. No grupo 3, a dose foi de 0,1 $g.kg^{-1}$ de peso corpóreo. No grupo 4, a dose foi de 0,05 $g.kg^{-1}$ de peso corpóreo. No grupo 5, os animais receberam apenas solução aquosa. Após diferentes tempos do tratamento oral, que variou de 1h até 8 dias, não foram registradas mortes ou qualquer alteração no ganho de peso dos animais, e nenhuma alteração hematológica ou na celularidade da medula óssea foi detectada. Vale destacar que a análise macroscópica da mucosa estomacal e intestinal, rins, baço, pulmão e coração não revelou nenhuma alteração visível sob condição de tratamento com extrato.

Testes farmacológicos

As avaliações farmacológicas, pré-clinicas do extrato aquoso de *Bowdichia virgilioides* foi realizado *in vivo* para a atividade de irritação primária da pele e cicatrização cutânea.

Os camundongos, machos e fêmeas da espécie *Mus musculus,* utilizados nos experimentos foram oriundos do biotério Central da UFAL. Os animais foram tratados contra parasitas (vermifugados) e aclimatados no biotério setorial do ICBS/UFAL.

Os testes de irritação primária da pele foram realizados de acordo com BRITO (1994), com modificações que consistiram na aplicação da formulação

sobre a pele íntegra dos animais. Foram utilizados três camundongos adultos. Os animais foram acomodados em gaiolas individuais a temperatura ambiente, em períodos de claro e escuro de 12h, com acesso a ração e água *ad libitum.* Os animais foram depilados na região dorsal, 24 horas antes da aplicação, sendo demarcados sítios de aplicação. Foram aplicados 200 µL do extrato aquoso das cascas ($0,01 g.mL^{-1}$), numa dose única, sobre a pele dos animais. Em seguida, os animais foram colocados em gaiolas separadas por quatro horas. Ao final do período de exposição buscou-se verificar se houve a formação de eritema, escaras ou edemas. Não foram observadas alterações cutâneas no período de tempo avaliado.

No teste de cicatrização foram utilizados 25 camundongos. Os animais foram depilados na região dorsal e acomodados em gaiolas individuais a temperatura ambiente, em períodos de claro e escuro de 12h, com acesso a ração e água *ad libitum.* Os animais receberam anestesia local com cloridrato de lidocaína e inalatória com éter sulfúrico. Foi feita uma incisão de 1 cm^2 na pele da região dorsal de cada animal até atingir o subcutâneo.

Os animais foram divididos em 5 grupos e receberam tratamento durante os 9 dias de experimento. O grupo 1, controle, recebeu solução salina NaCl a 0,9%. O grupo 2 foi tratado com Fibrase® e o grupo 3 foi tratado com a solução aquosa *Bowdichia virgilioides*, ressuspendidos em água (0,01g/mL). O grupo 4 recebeu tratamento com creme feito a partir do extrato de *Bowdichia virgilioides.* O grupo 5 recebeu tratamento com extrato de *Bowdichia virgilioides* formulado em pomada de vaselina. Os cortes ficaram abertos e os animais receberam o tratamento desde o dia da incisão até o 9° dia de experimento. Foram feitas análises macroscópicas quanto ao grau de retenção cicatricial e microscópica quanto ao grau de epitelização.

Pode-se constatar que as lesões realizadas cirurgicamente e tratadas diariamente com extrato de *Bowdichia virgilioides*, Fibrase® e salina estéril, apresentaram um perfil diferente no processo de cura. Notamos que o extrato de *Bowdichia virgilioides* propiciou uma melhor ação já em 3 dias após início do tratamento, onde não foi observada a presença de secreção purulenta. Portanto, a ação cicatrizante do extrato de *Bowdichia virgilioides*, quando em formulação apresentada

na forma de creme e comparada à substância padrão, mostrou-se evidente ao se realizar o teste cicatrizante em modelo de ferida.

Reivindicações

1. Composição farmacêutica para cicatrização de feridas, **caracterizada por** compreender formulação contendo extrato aquoso, alcoólico e hidroalcoólico das cascas do caule de *Bowdichia virgilioides* Kunth;

2. Composição farmacêutica para cicatrização de feridas, **caracterizada por** compreender formulação contendo extrato aquoso, alcoólico e hidroalcoólico da entrecasca, folha, raiz e semente de *Bowdichia virgilioides* Kunth;

3. Produto, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 e 2, **caracterizado por** conter de 0,1% a 15% (p/p) do principio ativo de extrato de *Bowdichia virgilioides* Kunth na preparação de medicamentos;

4. Produto, de acordo com as reivindicações de 1 a 3, **caracterizado por** apresentar redução do tempo de cicatrização de feridas cutâneas de pacientes com ferimentos em geral Inclusive queimaduras;

5. Produto, de acordo com as reivindicações 1 a 3 **caracterizado por** ser utilizado para produtos farmacêuticos, odontológicos e veterinários de uso externo;

6. Produto, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado para** a preparação de composições farmacêuticas, odontológicos e veterinários em forma de pomadas, loções, cremes, géis, aerosóis, sabões;

7. Produto, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado para** a preparação de composições farmacêuticas, odontológicos e veterinários em formulações para embeber curativos;

8. Produto, de acordo com as reivindicações 1 a 3 **caracterizado por** ser utilizado para produtos farmacêuticos, odontológicos e veterinários de uso interno;

9. Produto, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado para** a preparação de composições farmacêuticas, odontológicos e veterinários em uso oral e entérico;

10. Produto, de acordo com as reivindicações de 5 a 9, **caracterizado por** ser aplicado sobre lesões cutâneas em adultos, crianças e gestantes;

11. Produto, segundo qualquer uma das reivindicações de 1 a 10, **caracterizado por** compreender formulações contendo extrato de *Bowdichia virgilioides* Kunth associados a extratos e excipientes provenientes de outras fontes naturais, nas apresentações contendo um percentual de até 75% o respectivo extrato;

12. Produto, segundo qualquer uma das reivindicações de 1 a 11, **caracterizado por** compreender formulações farmacêuticas com constituinte(s) químico(s), fração(ões) de extratos, sumos da referida planta, contendo porcentuais de até 50% em peso da soma dos respectivos produtos;

13. Produto, segundo qualquer uma das reivindicações de 1 a 12, **caracterizado por** compreender formulações farmacêuticas de forma associada a fármaco(s) vitamina(s), sal(is), açúcar(es) e outros excipientes, adequados ao tratamento de cicatrização de feridas cutâneas;

Resumo

A presente invenção refere-se a uma composição farmacêutica para cicatrização de feridas utilizando extratos de *Bowdichia virgilioides* Kunth, compreende a aplicação de extratos, principalmente alcoólicos, hidroalcoólicos e aquosos das cascas, entrecascas, dos caules de *Bowdichia virgiloides* conhecida com nome popular de sucupira-preta utilizado para cicatrização de tecido cutâneo.