



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

(11) PI 0514092-7 B1

(22) Data do Depósito: 29/07/2005

(45) Data de Concessão: 06/02/2018



(54) Título: COMPOSIÇÃO TÓPICA COMPREENDENDO ÓLEO DE SEMENTE DE NIM E EXTRATO DE ÓLEO DE HYPERICUM PERFORATUM, SEU USO E FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA

(51) Int.Cl.: A61K 36/38; A61K 36/58

(30) Prioridade Unionista: 03/08/2004 IT RM2004 A 000393

(73) Titular(es): PHYTOCEUTICALS LTD.

(72) Inventor(es): FIORELLA CARNEVALI; STEPHEN ANDREW VAN DER ESCH

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSIÇÃO TÓPICA COMPREENDENDO ÓLEO DE SEMENTE DE NIM E EXTRATO DE ÓLEO DE *Hypericum perforatum*, SEU USO E FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA**".

[001] A presente invenção se refere ao campo de dispositivos médicos e em particular a uma composição compreendendo substâncias naturais, de origem de planta, isso pode ser usado para o tratamento e cura das lesões externas, de qualquer natureza, que combina, ao mesmo tempo, propriedades de restauração, anti-sépticas, antibacterinas, repelentes de dípteros miasigênicos e dípteros não-miasigênicos, anti-inflamatórias e de aliviar a dor.

[002] Como bem-conhecido na técnica, protocolos usuais à terapia de feridas externas, em medicina humana e veterinária, incluem as etapas de curetagem (remoção das partes moles da isquemia, necrótica ou degenerativa, ou supurativa) seguido de desinfecção com desinfetantes contendo ou iodetos ou benazaquil-cloretos ou compostos baseados em peróxido de hidrogênio, esses desinfetantes são variavelmente danosos ao tecido, mas são considerados indispensáveis à remoção ou morte de espécies de bactérias infectando as lesões. Em uma outra etapa, uma terapia antibiótica é aplicada, localmente ou sistematicamente, sob a forma de formulações de pó, creme, líquidas ou em forma de spray, a fim de ainda prevenir e/ou contrastar a infecção bacteriana, mesmo se danificar o tecido parcialmente e não favorecer a restauração. No fim, para manter as lesões moles e evitar o endurecimento e desidratação da crosta, especialmente em lesões estendidas ou queimaduras, gazes embebidas de umectantes gordurosos baseados em Vaselina ou óleos de silicone (muito oneroso) são aplicados. Durante a terapia de manutenção, os remédios mencionados acima são aplicados quando necessário, esperando pela ativação espontânea do processo de restauração (reparação). Em particular, secreções

e exudações, mais ou menos copiosas dependendo da natureza e extensão da ferida, são diariamente removidas seguido por desinfecção e aplicação dos remédios mencionados acima. Opcionalmente, em condições higiênicas/ambientais, as feridas são protegidas por bandagens que necessitam ser removidas a intervalos regulares, dependendo da natureza da lesão, para evitar paralisias, infecção ou putrefação da ferida.

[003] Em condições higiênicas/ambientais pobres, ou seja, essas frequentemente presente em países em desenvolvimento ou em medicina veterinária, geralmente, as feridas não podem ser administradas adequadamente e elas permanecem expostas a ataques de moscas miasigênicas (sarcófagídeos, califorídeos) ou quaisquer outras moscas (muscídeos) que podem contribuir a infecções importantes da ferida.

[004] Uma prática zootécnica ampla, mas ineficiente e perigosa é pingar Creolina (contendo fenóis e piche) nas feridas de animais a fim de manter moscas longe. Esse remédio, muito difuso e conhecido em cruzamento de animal, danifica extremamente o tecido, e também é tóxico. Além disso, o efeito repelente contra moscas não excede meia hora após o tratamento e necrotiza e destrói os tecidos de restauração. Esse remédio não pode ser usado em lesões muito extensas pelo motivo de ser extremamente tóxico por absorção e de suas propriedades danosas ao tecido.

[005] Um outro remédio, adotado no setor de zootecnia, fornece aplicação de vários inseticidas, incluindo piretóides naturais e/ou sintéticos, que têm um efeito larvicida ao invés de um efeito repelente, diretamente na nas feridas ou lesões infestadas de larva. A absorção de compostos inseticidas pelas superfícies abertas das feridas podem levar, especialmente no caso de lesões externas e de restauração lenta, à intoxicação aguda ou crônica nos animais. Além disso, o uso arbitrário de inseticidas expõem, por um lado, os operadores a riscos de into-

xicação e por outro, aumenta a carga tóxica tanto no ambiente, bem como no valor adicionado da cadeia do setor agro-alimentar se os animais tratados são direta ou indiretamente destinados para produção de alimentos.

[006] No estado da técnica não há dispositivos médicos, adotados pela medicina oficial, mostrando propriedades de restauração reconhecidas e/ou provadas, conhecidos.

[007] Na medicina veterinária, feridas (lesões) externas representam um problema muito difícil de se administrar, especialmente durante o período quando moscas estão ativas, e no caso de animais trabalhadores grandes, como mulas, cavalos e burros e também para outros animais de interesse zootécnico (bovinos, ovinos, etc.) ou animais de estimação, tanto de tamanho pequeno, como de tamanho grande.

[008] Mesmo em seres humanos, a administração de feridas (lesões, machucados) externas representa um problema sério nos países em desenvolvimento onde as condições higiênicas e de ambiente são quase que completamente inadequadas e o risco a ser exposto a complicações devido a infecções de parasitas, bactérias, etc. é muito frequente e alto, especialmente para sujeitos fracos e subnutridos.

[009] A presente invenção fornece uma composição incluindo óleo de nim e extrato de óleo de erva de São João (*Hypericum perforatum*) a porcentagens variáveis, entre 10 e 50%, de acordo com a necessidade de obtenção de diferentes efeitos prevalentes pertencentes a diferentes componentes sozinhos.

[0010] Outras características da presente invenção são descritas na seguinte descrição detalhada da invenção e nas Figuras em anexo, onde:

[0011] As Figuras 1A e 1B mostram o aspecto de uma ferida de mordida em um cão Maremano no primeiro dia de tratamento (Figura 1A) e após 23 dias de tratamento (Figura 1B).

[0012] As Figuras 2A e 2B mostram o aspecto de uma lesão na pele de um carneiro colonizado por vermes de *Wophartia magnifica* no primeiro dia de tratamento (Figura 2A) e após 10 dias de tratamento (Figura 2B).

[0013] As Figuras 3A e 3B mostram o casco de ovelha infestado por vermes de *Wophartia magnifica* no primeiro dia de tratamento (Figura 3A) e após 10 dias de tratamento (Figura 3B).

[0014] As Figuras 4A e 4B mostram o aspecto de uma ferida de pele traumática na parte superior da perna direita de um cavalo 20 dias após o evento traumático (Figura 4A) e após 3 meses de tratamento com o objeto de composição da presente invenção (Figura 4B).

[0015] As Figuras 5A e 5B mostram um porco-espinho com feridas de laceramento e de contusão no primeiro dia de tratamento (Figura 3A) e após 1 mês de tratamento (Figura 5B).

[0016] As Figuras 6A e 6B mostram uma lesão purulenta devido a *Corynebacterium pseudotuberculosis* em um alpaca no primeiro dia de tratamento (Figura 6A) e após 1 mês de tratamento (Figura 6B).

[0017] A Figura 7 mostra o efeito repelente nos diferentes componentes da composição contra moscas fêmeas de *Callyphora* maduras prontas para botarem ovos. O controle é carne imersa em água.

[0018] A Figura 8 ilustra os efeitos biocidas dos diferentes componentes da composição contra o desenvolvimento de larvas da subespécie *Callyphora*.

[0019] A tabela na Figura 9 ilustra os resultados da experimentação clínica realizada em cachorros. (Na primeira coluna, o caso simples é identificado pela lesão ou pelo nome do animal, na segunda coluna é resumido o tipo de lesão, na terceira coluna é indicado o curso de tempo, na quarta coluna é indicado quando foi iniciada a terapia, na quinta coluna é indicado se uma terapia sistêmica foi administrada, na sexta coluna é indicado a terapia local usada e a última coluna indica

os dias da inflamação).

[0020] A tabela na Figura 10 mostra os resultados da experimentação clínica realizada em alpaca, bodes, ovelhas, bovinos e porcos-espinhos.

[0021] A tabela na Figura 11 mostra os resultados da experimentação clínica realizada em cavalos.

[0022] A presente invenção descreve uma terapia completa para lesões (feridas) externas que não necessitam de quaisquer meios terapêuticos auxiliares, isto é, antibióticos, desinfetantes, umectantes, meios protetores, etc. Dito dispositivo médico pode ser usado, em todas as circunstâncias, especialmente naquelas onde é impossível hospitalizar os pacientes em condições protetoras, em todos aqueles casos de processos de restauração alterados devido a doenças metabólicas ou doenças de invalidez crônicas.

[0023] O problema técnico é solucionado fornecendo uma composição compreendendo os seguintes compostos ativos: óleo de nim, com propriedades de restauração, repelente, anti-sépticas e anti-inflamatórias e o extrato de óleo de *Hypericum* com propriedades de restauração, lenitivas e anti-sépticas ou antibióticas.

[0024] A Patente US 6,113,907 A descreve estudos clínicos da erva de São João, depressão leve a moderada, atividade antiviral, efeitos restauradores de ferida (onde a atividade bacterina é descrita) e efeitos variados.

[0025] A Patente US 621,950 A descreve uma pomada incluindo, entre outros extratos de planta, extratos de nim que são usados por suas propriedades naturais de restauração para pele rachada.

[0026] Na Patente KR 2003002004, uma composição cosmética contendo nim antimicrobial é descreve.

[0027] O pedido de patente WO 02/22147 descreve uma combinação antibacterina que inclui extratos de planta de nim.

[0028] A Patente US 6,579,543 descreve que nim pode ser considerado um dos melhores agentes de restauração e desinfecção para doenças de pele. Descreve que nim pode ser também usado como um anti-inflamatório para dor muscular e de juntas, enquanto *Hypericum* trata muitas desordens, incluindo, cortes, arranhões, contusões, queimaduras menores, ciática, nervos danificados, inflamações, úlceras, mordidas de répteis venenosos, desordens de rim e pulmão, reações alérgicas, ansiedade e depressão.

[0029] O óleo de nim é obtido ou através de pressão auxiliada por frio/calor ou através de extração de solvente das sementes maduras da árvore de nim (*Azadirachta indica* (A. Juss)). O óleo obtido é monitorado à ausência de micotoxina (alfatoxinas).

[0030] O extrato de óleo de erva de São João (*Hypericum perforatum*) é obtido através de um processo de maceração de pelo menos três a seis semanas sob o sol das coroas floridas de plantas de São João em óleo derivado de planta contido nos recipientes de vidro claro. As coroas floridas devem ser coletadas no momento de maturação máxima. Após o processo de maceração estiver completo, o extrato de óleo terá coloração típica de vermelho-rubi. Subsequentemente, o extrato de óleo é filtrado e estocado em recipientes de vidro escuro a fim de evitar processos de degradação oxidativos devido à exposição a luz natural ou raios ultra-violeta. Esse procedimento particular da preparação de extrato de óleo de *Hypericum* garante a sua eficiência.

[0031] Em uma outra modalidade da presente invenção, Azadirachitina A (triterpenóide da classe limonóide que é classificado como pertencente à classe IV de toxicidade tanto para EPA (EUA) como à EEA (UE), isto é, não é tóxico à saúde nem ao ambiente) é adicionado a fim de melhorar o efeito biocida.

[0032] Opcionalmente, Azadirachitina A pode ser adicionado a fim de melhorar o efeito biocida. Azadirachitina A tem propriedades inseti-

cidas, inibidora de regulação de crescimento (GRI) e propriedades antialimentantes em muitas espécies danosas de insetos diferentes.

[0033] Azadiractina A é adicionada em uma concentração entre 100 ppm e 1000 ppm.

[0034] Adicionalmente, óleos essenciais de alecrim, basilicão e orégano podem ser antioxidantes, conservantes e aromáticos adicionais.

[0035] Uma formulação sólida pode ser obtida adicionando às misturas descritas acima de cera de abelha natural.

[0036] Cera de abelha, como agente emulsificador e solidificante, é adicionado a uma porcentagem de 7% e 15%.

[0037] Óleo de oliva ou outros óleos de semente comerciais podem ser adicionados trazendo a solução final a 1000 g.

[0038] Os componentes únicos da invenção estão comercialmente disponíveis no mercado.

[0039] Como demonstrado nos seguintes testes experimentais, a composição, objeto da invenção, mostra, em combinação, todas as propriedades necessárias para obter uma restauração de feridas eficiente, isto é, efeito de restauração, efeito repelente, efeito anti-inflamatório, efeito lenitivo e efeito antisséptico. As propriedades de cada componente são melhoradas em comparação aos componentes únicos de planta, graças ao efeito sinérgico.

[0040] Adicionalmente, ele representa um único dispositivo médico mostrando propriedades desinfetantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, lenitivas, analgésicas, etc. em combinação com as propriedades necessárias para obter uma restauração eficiente (ativar, potencializar e acelerar os processos fisiológicos na base da restauração da ferida) e um efeito repelente contra moscas miasmatógenas ou não-miasmatógenas.

[0041] A composição da presente invenção pode ser aplicada diariamente nas superfícies da ferida, como um único remédio, também

em casos de perda média a séria de substância, ou seja, feridas profundas, laceradas e contundidas (machucadas) com tecidos inferiores, ou destruídos ou necróticos ou supurantes, em substituição de todos os outros remédios atualmente usados.

[0042] Concluindo, a composição, objeto da presente invenção, permite restaurar feridas externas, de qualquer tipo e extensão, através da aceleração e reforço do processo de restauração, sem o uso de um tratamento antibiótico local, (com exceção de um tratamento de antibiótico sistêmico a ser realizado durante as fases iniciais de ativação da proteção de superfície ferida dada pelo tecido de granulação) e confere uma proteção adicional contra moscas miasigênicas ou não-miasigênicas, que podem colonizar machucados ou feridas externas tanto em seres humanos como em animais, através de seu efeito repelente.

[0043] Os resultados experimentais (Figuras 1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 3B, 4A, 4B, 5A, 5B, 6A, 6B, 9, 10, 11) demonstraram uma estimulação imediata da granulação fisiológica com revascularização precoce do tecido danificado, eliminação de tecidos isquêmicos e necróticos, detenção dos exsudatos de soro (chamados hemorragia branca em caso de feridas de queimaduras extensas), reabsorção de derramamento hemático e detenção de proliferação de bactérias putrificantes. Após 24–36 horas do primeiro tratamento, a ferida mostra o aspecto de reação positiva típica do processo de melhoria ativado. Além disso, a superfície dolorida é completamente coberta com um tecido de granulação mole, elástico e adequadamente umidificado, as feridas não formam uma crosta dura permanente enquanto o exsudato de soro é parado. Adicionalmente, pelo fato de umidade própria, nenhuma fissura nem rachaduras da crosta ocorrem. Feridas tratadas com a composição da presente invenção, imediatamente apresentam um aspecto mole e elástico das partes danificadas e não há fissuras devido a exsuda-

tos dissecados, que são usualmente formados na superfície da ferida sob reparação. A medicação diária é facilitada, especialmente em espécies muito sensíveis à dor, ou seja, homem, cavalo, etc. como resultado de propriedades analgésicas e lenitivas excelentes da invenção.

Processo de restauração de feridas

[0044] Restauração de feridas é uma sequência complexa de eventos celulares e bioquímicos. É um sistema regenerativo à restauração da anatomia e da funcionalidade dos tecidos danificados. Não é um sistema regenerativo completo porque a cicatriz final não apresenta a mesma anatomia e função da situação de tecido original. Ferramentas terapêuticas usadas em reparação de feridas pode ser tradicional, natural ou de alta tecnologia. Sabe-se no campo científico que um único agente exógeno capaz de eficientemente mediar todos os aspectos numerosos do processo de restauração de ferida não está disponível e uma mistura úmida omnicompreensiva especial à regulação de processos de restauração de ferida não existe.

[0045] O processo de restauração consiste em 3 fases:

[0046] A fase inflamatória: dura não mais que 3 dias, mas é prolongada e exacerbada quando uma infestação bacteriana está presente.

[0047] A fase de granulação: inicia-se imediatamente após a ferida, mas torna-se evidente 3 dias após a ferida. Representa uma barreira temporária até a reepitelização da pele nova estiver completa. É inibida ou atrasada por eventos inflamatórios. Apresenta diferentes cursos de tempo dependendo da espécie. À maioria dos animais e seres humanos, dura 15 dias, no curso de tempo de cavalos, ela é bem lenta (meses) dependendo da extensão, localização e tensão das feridas. Em cavalos, esse processo pode também levar a processos patológicos chamados de formações de quelóide.

[0048] A fase de remodelação: é uma parte não-estável do pro-

cesso de restauração e dura meses ou anos. Inicia-se quando a reepitelização da parte ferida estiver completa e é responsável pela retração de desfiguração da cicatriz, quando fases precedentes não estiverem bem reguladas.

Efeito antimicrobial

[0049] Complicações bacterinas (infecções) de feridas sempre ocorrem, de fato, tecidos danificados são imediatamente colonizados após a ferida, especialmente em feridas traumáticas contaminadas por terra, cabelo, fezes ou provocadas por mordida.

[0050] Observou-se que quando a composição, objeto da invenção, é aplicada imediatamente após a ferida, o processo de restauração inicia-se sem complicações bacterinas, a fase inflamatória dura os 3 dias fisiológicos após o qual o tecido de granulação torna-se evidente em todas as superfícies da ferida. Se o tratamento com a composição, objeto da invenção, inicia-se quando a complicação bacterina e a reação inflamatória excessiva já estejam presentes, tenham sido regularmente observadas, dentro de 3 dias, a esterilização das feridas e a transformação regular da fase inflamatória em processos de granulação devido a efeitos antibacterinas, anti-inflamatórios e de restauração da composição.

[0051] Todos esses efeitos também têm sido observados em feridas muito complicadas de mais de 7 dias de idade (antes do tratamento ser iniciado), em cuja necrose gangrena em todas as superfícies de feridas estejam presentes. Após 3-5 dias do tratamento com o objeto de composição da presente invenção, os sinais locais e gerais de infecção (necrose com mal cheiro, fragmentações, febre, toxemia, etc.) desaparecem.

Efeito no tecido inviável

[0052] Na presença de tecidos inviáveis, necróticos e/ou infectados, desfragmentação salina pelos primeiros 2 ou 3 dias é regularmen-

te associada ao tratamento com o objeto da composição da presente invenção. Desfragmentação salino remove fibrinas que prendem o fragmento necrótico e desidrata os tecidos necróticos que podem ser removidos. Usualmente, esse método de desfragmentação ainda não é suficiente para separar a superfície viável dos tecidos necróticos, é ligeiramente doloroso e provoca hemorragia da superfície da ferida. A separação completa dos tecidos viáveis e inviáveis deve ser feita pela atividade das células inflamatórias (especialmente as "macrofagias ativadas") e as células epidérmicas. Essas duas linhagens de célula têm um papel importante na inclusão da desfragmentação espontânea das feridas. A composição, objeto da presente invenção, provavelmente têm um papel na regulação e bem-estar dessas células inflamatórias e epidérmicas. Foi observado que o método de desfragmentação mecânica salina não é completamente eficiente na remoção de todos os fragmentos. Entretanto, antes de realizar a desfragmentação diária, e tendo tratado a superfície das feridas com dita composição um dia antes, é possível remover os fragmentos velhos em um período de tempo muito curto (um ou dois dias). Em casos extremos, a desfragmentação pode ser realizada. Dentro de 3-5 dias, a superfície limpa apresenta um tecido de granulação perfeita e a segunda fase do processo de restauração é induzido. Os parâmetros fisiológicos dos pacientes voltam ao normal. A dor aguda, provocada por um estado de infecção e inflamação, desaparece. O fato do aparecimento do tecido de granulação prova que a infecção acabou e o processo inflamatório transformou-se em um processo de restauração, e os efeitos de restauração, antibacteriana e anti-inflamatório da mistura do objeto da invenção são demonstrados.

Efeito lenitivo

[0053] Foi demonstrado que a composição, objeto da presente invenção, mostram um efeito lenitivo não apenas indiretamente. De fato,

é capaz de regular propriamente o processo inflamatório, também quando a dor é causada por fibras nervosas sensíveis da ferida (como em uma queimadura). A animais que são muito sensíveis a dor, isto é, cavalos, podem ser administrados sem estarem sedados mesmo na presença de feridas severas. Animais tratados com dita composição nunca mostraram comportamentos de coceira ou de lambidas compulsivas. Experiências experimentais confirmam o rápido efeito lenitivo de tal composição especialmente quando ele é aplicado em queimaduras.

Efeito de angiogênese e anti-hemorrágico

[0054] O objeto da composição da presente invenção mostra um efeito anti-hemorrágico em superfícies de ferida quando o tecido de granulação são acidentalmente danificados, a hemóstase é alcançada em mais ou menos um minuto após a aplicação.

[0055] Além disso, dita composição apresenta efeitos potentes em processos de neo-angiogênese durante a formação do tecido de granulação, foi mostrado que o tecido de granulação sempre apresenta a vascularização certa em toda parte da ferida iniciando das primeiras etapas do processo. Neo-angiogênese é um processo muito importante da segunda fase de restauração, é estimulado por hipóxia do tecido danificado e pela reação de inflamação. Os novos vasos formados têm que suportar o tecido de granulação proliferativo. A integridade e permeabilidade desses novos vasos são reguladas por várias proteínas funcionais secretadas por células inflamatórias e de mesênquima (fibroblastos). Foi demonstrado que o objeto de composição da presente invenção tem um efeito potente em função vascular devido a sua habilidade de conter hemorragias (efeitos na integridade do vaso) e sua habilidade de controlar o inchaço da superfície das feridas (efeitos na permeabilidade do vaso) que representam uma das mais importantes complicações em ferimentos de queimadura. Após o risco de infecção, a permeabilidade do vaso exacerbado da superfície da ferida (linforréia

ou hemorragia branca), quando afetando grandes partes do corpo, pode provocar a morte de pacientes devido à concentração sanguínea (*inspissatio sanguinis*) e consequente bloqueio da função renal. É possível obter a contenção da hemorragia branca final dentro de não mais que 3 dias, e pacientes mesmo com 50-60% da superfície do corpo queimado sobrevivem. Visando os poderosos efeitos de dita composição em linforrêia, deve ser muito importante a realização de testes de queimadura em seres humanos.

[0056] Pode ser interessante, também testar os efeitos da mistura na fase de retração de restauração da ferida. Isso porque nunca foi observada a desfiguração de cicatrizes também quando as feridas foram muito sérias enquanto em seres humanos o resultado das queimaduras é sempre a desfiguração das cicatrizes retraídas.

Reepitalização

[0057] As beiradas da ferida, regularmente tratadas com a composição, objeto da presente invenção sempre têm mostrado sinais de reepitalização devido à migração epitelial rápida e efetiva e transformação do tecido de granulação inferior em um tecido pálido, maduro e restaurado, também nos casos onde a extensão da área de ferida foi muito grande. A restrição da área de ferida parece linear se a composição for regularmente aplicada e ela se torna mais lenta se a mistura não for aplicada. Em cães e cavalos, o efeito de um processo bem modulado da maturação de colágeno na área neo-epitalizada da ferida é claramente observável. De fato, enquanto a parte interna da área danificada ainda está coberta pelo tecido de granulação, as margens reepitalizadas perto da ferida apresenta sinais de retração que desaparecem enquanto os processos de restauração de ferida esteja ocorrendo e desapareça completamente quando o processo de restauração estiver acabado.

[0058] A composição, objeto da presente invenção, é capaz de

manter a superfície da ferida bem-hidratada (propriedade umectante) já que ela nunca se torna coberta com um tecido anelástico, seco e negro chamado "escara" (crosta). Escara é a reação normal da superfície de ferida ao processo de desidratação (que é 20 vezes mais rugoso que aquele da taxa de desidratação da pele saudável). O processo de restauração deve ser realizado sobre a taxa certa de hidratação, senão as proteínas funcionais e estruturais presentes no tecido danificado formam uma mistura grudenta que retém e impede o processo. A superfície de ferida desidratada não é removida pelas células inflamatórias até que o processo de restauração esteja completo. Escara tem a função de manter o nível certo de hidratação das feridas até que a reepitelização seja feita. Geralmente, ela se torna dura e anelástica e pode sofrer fissuração e remoção traumática que pode provocar hemorragia no tecido de granulação inferior. A ausência de escara em todos os casos prova que dita composição cria um ambiente favorável na superfície da ferida evitando a desidratação e seus efeitos colaterais.

[0059] Quando a composição, objeto da presente invenção, é aplicada, a cicatriz final, em feridas grandes e severas, nunca mostra sinais de retração ou fibrose. A pele reconstruída é mole e elástica quase tanto quanto a original (fisiologicamente recuperada) e apresenta pigmentação e anexa reconstrução (cabelo, glândulas). Esses efeitos são devido a sequências perfeitamente sincronizadas dos eventos de restauração que são raros e quase impossíveis de se alcançar em feridas não tratadas com a presente invenção.

Efeito repelente

[0060] As feridas tratadas não são colonizadas por moscas miasogênicas por um tempo de 24 horas seguidas de tratamento (efeito repelente contra ovoposição).

[0061] O efeito repelente da composição, objeto da presente in-

venção foi bem-documentado *in vivo*. Dípteros visitam as feridas durante todas as estações quentes e mornas. Muscídeos (*Musca domestica*) alimentam-se de fluidos corporais, incluindo aqueles secretados por feridas. Eles representam um problema real e vetor mecânico potencial de infecção. Quando parte da ferida for tratada com a presente composição, nenhuma mosca fica na parte tratada, enquanto a parte não-tratada é regularmente visitada. O efeito dura 6-8 horas. Usando a composição, objeto da presente invenção, a administração de ferida veterinária, durante o período de estações, torna-se possível.

[0062] Alguns Dípteros Sarcófagídeos, conhecidos como Moscas Miasigênicas (*Wolphartia magnifica*, *Lucilia sericata*) depositam larvas vivas e essas larvas comem os tecidos dos animais afetados. As feridas infectadas que apresentam necrose e gangrena são colonizadas por outros Dípteros Sarcófagídeos (*Sarcófaga emorroidaria*). Miase é um problema muito grande em ovelhas após terem sua lã retirada, após aplicação das etiquetas de ouvido e em todos os casos de feridas traumáticas especialmente do casco. Miase é também um problema importante para todos os outros animais feridos durante o horário de verão. Um rebanho de ovelhas, durante dois verões, foi administrado usando a presente composição obtida durante a redução da incidência dos animais afetados. Em outros dois rebanhos de ovelhas, a presente composição foi aplicada nas feridas infestadas quando as lesões foram descobertas. A composição, objeto da presente invenção, mostra um potente efeito repelente contra moscas Miasigênicas por 24 horas. Nenhuma nova geração de larvas dípteras foi encontrada em feridas quando a presente composição foi aplicada diariamente. Larvas devem ser removidas mecanicamente, mas dependendo da ferida, não é usualmente possível a remoção de todas as larvas presentes, mas em feridas tratadas não é um problema porque elas morrem dentro deste período (efeitos biocidas da mistura *in vitro* testada).

O processo de restauração de ferida apresenta o curso descrito acima. Se uma ferida limpa não for medicada dentro de 24 horas, novas gerações de vermes são sempre depositada, senão, haverá restauração regularmente.

Teste in vitro para efeitos biocidas e repelentes

[0063] A fim de ilustrar o efeito biocida e repelente da composição de óleo de nim e extrato de óleo de *Hypericum* tanto os componentes únicos e o objeto de composição da invenção foram testados.

[0064] Os testes foram realizados com moscas da subespécie *Callyphora*, que são comuns e espalham agente miasigênico em gado, *in vitro*. Para cada tese testada, foram feitas 5 réplicas.

[0065] Os seguintes testes foram realizados: repelência versus ovoposição de fêmeas usando pedaços de carne imersos nas substâncias para serem testadas: água, óleo de nim, extrato de óleo de *Hypericum*, uma mistura 50/50 de óleo de nim e extrato de óleo de *Hypericum* (referido como Mistura na Figura 7) e usando carne imersa em água como controle.

[0066] O efeito biocida das diferentes substâncias: água, óleo de nim, extrato de óleo de *Hypericum*, uma mistura 50/50 de óleo de nim e extrato de óleo de *Hypericum* (referido como Mistura na Figura 8) no desenvolvimento larval da subespécie *Calliphora*.

[0067] Os resultados experimentais mostrados nas Figuras 7 e 8 indicam claramente que ambos os componentes têm o efeito repelente versus moscas fêmeas *Callyphora* grávidas como a própria composição. O efeito biocida da presente composição é apenas devido ao componente de óleo de nim.

Experimentação clínica

[0068] A experimentação clínica foi realizada em vários tipos de lesão de animais diferentes: cães (Figura 9), alpaca, bodes, ovelhas, vacas, porcos-espinhos (Figura 10) e cavalos (Figura 11).

[0069] Foi demonstrado que usando a composição, objeto da presente invenção, é possível resolver a restauração de feridas externas, de qualquer tipo e extensão, através da aceleração e reforço do processo de restauração, sem usar um tratamento antibiótico local, (com exceção de um tratamento antibiótico sistêmico para ser realizado durante as fases iniciais da ativação da superfície danificada dado pelo tecido de granulação) e conferindo contemporaneamente uma proteção adicional em relação às moscas miasigênicas que podem colonizar machucados ou feridas externas tanto em seres humanos como em animais, devido a seu efeito repelente.

[0070] Os tempos de recuperação são contidos e/ou reduzidos a processos fisiológicos essenciais típicos para cada espécie de animal, devido à estimulação evidente dos processos de restauração e devido ao fato de se evitar maiores complicações que são usualmente presentes. Logo, é evidente que, especialmente em medicina veterinária, esses sujeitos que costumavam trabalhar podem continuar vivendo em seu ambiente normal e cumprir suas funções, se não subsistirem nenhuma outra condição de invalidez.

Caso especial: Cavalos

[0071] A experimentação clínica foi de grande interesse em cavalos, como mostrado na tabela da Figura 11. De fato, um processo de restauração bem-regulado em cavalos representa o objetivo mais importante para administração equina. Nessa espécie, o processo de recuperação é lento e geralmente é complicado por várias patologias. A mais importante é a formação de quelóide.

[0072] Quelóide é uma perturbação do tecido de granulação devido à hiperproliferação dos fibroblastos. Essas células param a atividade mitogênica quando o suficiente da matriz celular enche a cratera da ferida. Fibrilas de colágeno da matriz começam a retrair o ancoramento das beiradas da ferida a fibroblastos. Quando as fibrilas de colágeno

começam a reagir, os fibroblastos param de secretar a matriz (efeito antimitogênico). A maioria deles passa, por apoptose (morte de célula sem indução de uma reação inflamatória) e quiescência (fibroblastos adormecidos), enquanto apenas uma pequena parte passa pela transformação em miofibroblastos (que têm um papel nas últimas fases de restauração da ferida). Os novos vasos capilares formados são absorvidos e desaparecem em sincronia com os fibroblastos. Queratinócitos no topo da área restaurada começam a reepitalizar a área e o processo está completo: Em cavalos, pesquisadores identificaram duas ordens de problemas responsáveis pela alta incidência da patologia de quelóide: 1) estímulos de tensão exagerados a níveis da parte distal das pernas de cavalos devido à escassez de massa muscular e gordura hipodermal e 2) lenta capacidade dos queratinócitos de obter a reepitalização da área granulada talvez devido a escassez de sinais responsáveis pelo efeito antimitogênico em fibroblastos. Pelo fato dos estímulos de tensão exercidos em um nível das beiradas da ferida, por pele saudável adjacente, perturbarem os efeitos antimogênicos da retração da matriz, a ferida localizada na parte distal dos membros do cavalo, em que a tensão de pele é muito forte, sofrem a formação de quelóide. Além dos efeitos serem amplificados pela taxa lenta de proliferação de queratinócito que determina níveis muito baixos de moduladores derivados de queratinócito antimitogênico. Os resultados são que os fibroblastos não reconhecem o efeito antimogênico e continuam a proliferar e secretar a matriz extracelular. O tecido de granulação torna-se muito grande, parecendo uma esponja mole sem mostrar sinais de regressão. É muito frágil, sangra continuamente e pode provocar dano funcional sério pelo motivo de reter as estruturas anatômicas dentro dele (nervos, tendões, etc.). Eles são muito difíceis de serem controlados, o tempo de restauração é anormalmente prolongado, nenhuma terapia efetiva é disponível atualmente. Uma terapia usual mui-

to agressiva consiste em queimar o tecido exuberante por aplicação de ácido salicílico na superfície da quelóide, até que o nível se retraia ao nível da pele e a reepitalização seja feita. É uma terapia que consome muito tempo para ser realizada. Usando a composição, objeto da presente invenção, sem nenhum tipo de curativo (como em uso normal da presente composição) em uma ferida na parte distal de um membro de cavalo, em cuja quelóide é formada, observa-se que a terapia com a presente composição não é capaz de controlar a formação da quelóide. Se um curativo permanente da ferida for aplicado sem o uso de dita composição, a quelóide continua a crescer, e é possível observar algum efeito na superfície de quelóide devido à hipóxia compressiva, mas não a regressão da quelóide. Quando a terapia com a presente invenção, duas vezes ao dia, é associada ao curativo permanente das feridas, observa-se uma incrível regressão de todas as partes patológicas da quelóide.

[0073] Após 3 dias de terapia de mistura, o tecido exuberante mostra uma cor pálida e menor espessura. Após 5 dias, o tecido exuberante desapareceu completamente sem sinais de necrose ou presença de desfragmentação. O tecido foi absorvido como no caso de apoptose fisiológica. Essas observações são reforçadas pelo efeito hemorrágico, e observa, na remoção do curativo que dura não mais que dois minutos. Preocupações com sangramento de toda a superfície da ferida onde quelóides estão presentes. A superfície da ferida apresenta tempos de granulação normal, as beiradas da ferida mostram o processo de recuperação normal (reepitalização). Foi hipotetizado que a apoptose afeta apenas os fibroblastos exuberantes, enquanto os vasos não são envolvidos. Quando o curativo é removido, tratos dos vasos não mais incluídos na matriz iniciam o sangramento. Quando a composição, objeto da presente invenção, é usada em quelóides, nenhuma fragmentação ou tecido necrótico está presente, en-

quanto apenas um curativo permanente aplicado em quelóides não desaparece e algum fenômeno autocíclicos como fragmentação necrótica, estão presentes. O tempo de restauração na terapia com a presente composição é mais rápida que a terapia com ácido salicílico. A associação de curativos permanentes com a terapia de ácido salicílico não é tão eficiente como a terapia com a presente composição. Essas observações tornam realista a administração de piores feridas em cavalos, sem o problema de formação de quelóide. O curativo permanente associado à composição, objeto da presente invenção tem que ser aplicado às feridas sobre riscos de quelóide até que as feridas sejam completamente fechadas. Se o curativo permanente for completamente removido, dentro de seis horas, a formação de quelóide se inicia novamente e o processo é bem rápido. O curso da nova formação de quelóide sofrerá o mesmo esquema de 5 dias de regressão e a fase de sangramento final, antes de mostrar um tecido de granulação normal quando a presente composição e o curativo são mais uma vez aplicados. O curativo permanente age evitando a tensão entre as beiradas de ferida, mas o processo de restauração deve ser auxiliado por fatores de restauração presentes na mistura. Nem o curativo permanente nem a terapia com a presente composição apenas pode agir efetivamente em formação de quelóides, nem outras terapias existentes apenas ou associadas podem evitar formação de quelóides ou promover a resolução rápida mostrada pelo objeto de composição da presente invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição tópica, caracterizada pelo fato de que compreende:

óleo de semente de nim, e

extrato de óleo de *Hypericum perforatum*,

sendo que o dito óleo de semente de nim está presente em uma porcentagem em peso entre 10% e 50%, e

sendo que o dito extrato de óleo de *Hypericum perforatum* está presente em uma porcentagem em peso entre 10% e 50%.

2. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende opcionalmente Azadiraquitina A.

3. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que Azadiraquitina A está presente em uma concentração ente 100 ppm e 1000 ppm.

4. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende ainda óleos de oliva ou óleos de sementes de planta comercial em uma quantidade suficiente para obter 1000 g de produto final.

5. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende ainda óleos essenciais derivados de orégano, basilicão e alecrim, como um antioxidante, e agentes flavorizantes.

6. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizada pelo fato de que compreende cera de abelhas em uma porcentagem entre 7% e 15%.

7. Uso de uma composição, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que é à preparação de um medicamento para tratamento tópico de feridas externas em animais e seres humanos.

8. Formulação farmacêutica para tratamento tópico de feridas

das externas de animais e seres humanos, caracterizada pelo fato de que compreende uma composição, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 6.



Fig. 1a

Fig. 1b



Fig. 2a

Fig. 2b



Fig. 3a

Fig. 3b



Fig. 4a

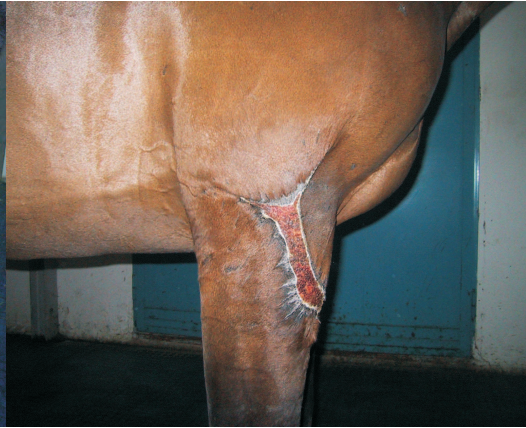


Fig. 4b



Fig. 5a



Fig. 5b



Fig. 6a



Fig. 6b

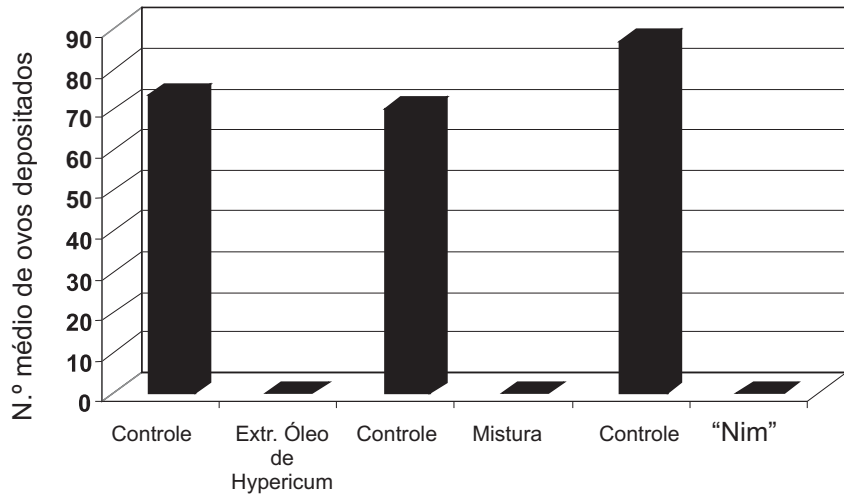


Fig. 7

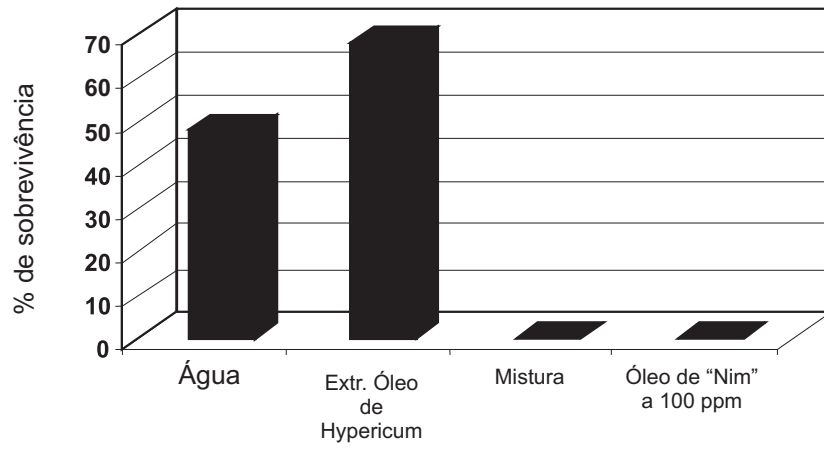


Fig. 8

CÃES	TIPO DE LESÕES	TEMPO DE CURSO DA MISTURA	INÍCIO DA MISTURA DE TERAPIA	TERAPIA SISTÊMICA	TERAPIA LOCAL	DIAS DE INFLAMAÇÃO
Face	Ferida de laceramento e contusão na cabeça, pescoço e orelha direita	4 meses	de início	antibiótico por 1 semana	Reconstrução cirúrgica falhada	3
Pernas	Ferida traumática da parte superior das pernas traseiras	20 dias	de início	antibiótico por 1 semana	Banho em solução salina	3
Cauda	Necrose de toco da cauda	20 dias	de início	antibiótico por 1 semana	Banho em solução salina	3
Lilla	Traumatic wound ear neck and shoulder	25 dias	de início	antibiótico por 1 semana	Remoção de vermes e banho	3
Ross	Remoção traumática de uma das almofadas anteriores	30 dias	de início	antibiótico por 1 semana	Reconstrução Cirúrgica	5
Pablo	Fistula perianal e rágados	20 dias	lesão crônica	nenhum	Banho em solução salina	7
Úlcera de pressão	Úlcera de pressão no cotovelo	20 dias	lesão crônica	nenhum	nenhum	0
Ombro	Ferida de laceração e contusão no ombro	20 dias	de início	nenhum	nenhum	0
Prolapso1	Prolapso do reto	3 dias	depois de 2 dias	nenhum	Seringa com mistura	1
Prolapso2	Prolapso do reto	5 dias	depois de 2 dias	nenhum	Seringa com mistura	2

Fig. 9

ALPACA	TIPOS DE LESÕES	TEMPO DE CURSO DA MISTURA	INÍCIO DA MISTURA DE TERAPIA	TERAPIA SISTÊMICA	TERAPIA LOCAL	Dias de inflamação
Todos	Fistulas purulentas e abscessos nas diferentes partes do corpo	30 dias	lesão crônica	nenhum	banho em iodo	20
BODES						
Saanen	Fistulas purulentas e abscessos causados por <i>Corinebacterium pseudotuberculosis</i>	30 dias	lesão crônica	nenhum	banho em iodo	7
OVELHAS						
Cascos (15)	Feridas infestadas nos cascos por <i>Wophartia magnifica</i>	15-20 dias	lesão crônica	nenhum	Remoção de vermes e banho	7
Prepúcio (3)	Feridas infestadas na pele revestida por <i>W. magnifica</i>	15-20 dias	lesão crônica	nenhum	Remoção de vermes e banho	0
Cabeça	Feridas infestadas no topo da cabeça por <i>W. magnifica</i>	33 dias	lesão crônica	nenhum	Remoção de vermes e banho	0
Lado	Feridas infestadas no flanco por <i>W. magnifica</i>	41 dias	lesão crônica	nenhum	Remoção de vermes e banho	4
Cauda	Feridas infestadas no flanco por <i>W. magnifica</i>	17 dias	lesão crônica	nenhum	Remoção de vermes e banho	0
BOVINOS						
	Ferida causada pela orla da fistula ruminal	30 dias	depois de 20 dias	nenhum	nenhum	0
PORCOS-ESPINHOS						
Porco-espinho	Feridas traumáticas da parte traseira do corpo	30 dias	depois de 7 dias	antibiótico por 1 semana	Reconstrução Cirúrgica falhada	7 + 5

Fig. 10

CAVALOS	TIPOS DE LESÕES	TEMPO DE CURSO DA MISTURA	INÍCIO DA MISTURA DE TERAPIA	TERAPIA SISTÊMICA	TERAPIA LOCAL	dias de inflamação
Asino	Ferida de laceração e contusão na parte da carcaça do corpo, causada por mordidas de cachorro	4 meses	depois de 7 dias	nenhum		7 + 5
Principessa	Abcesso purulento no pescoço	1 meses	depois de 7 dias	antibiótico por 3 semanas	injeção de misturas nas cavidades	7 + 4
Vispo	Abcesso traumático no espaço intermandibular	1 meses	de início	antibiótico por 1 semana	Banho com solução salina	3
Operação de laringe	Restauração de segunda intenção da ferida cirúrgica na laringe	15 dias	de início	antibiótico por 2 semanas	nenhum	0
Marat	Abcessos ventrais	1 meses	de início	antibiótico por 2 semanas	Banho com solução salina	4
Zerdiana	Ferida traumática no ombro direito	8 meses	depois de 20 dias	antibiótico por 2 semanas	nenhum	0
Stephan Grigo	Ferida traumática na parte traseira do cotovelo	54 dias	de início	antibiótico por 1 semana	nenhum	0
Aveignese	Ferida traumática na região do carpo direito	20 dias	depois de 7 dias	antibiótico por 1 semana	Banho	7 + 3
Sudan	Ferida traumática na região do carpo esquerdo	3 meses	depois de 7 dias	antibiótico por 1 semana	Reconstrução cirúrgica parcial	0
Drago	Ferida traumática na região de ambos os carpos	51 dias	de início	antibiótico por 1 semana	terapia comparada com tradicional	0
Riano	Ferida traumática na região do tarso esquerdo	5 meses	depois de 4 meses	nenhum	Banho com solução salina permanentemente	4 meses + 20
Tommaso	Ferida pequena na parte medial do osso	1 meses	depois de 5 dias	nenhum	nenhum	0
Saura di Sutri	Ferida traumática no osso de carcaça (queilóide)	3 meses	depois de 7 dias	nenhum	Banho com solução salina	0 + 5
Manlio	Ferida pequena na parte anterior do osso	70 dias	depois de 2 semanas	nenhum	nenhum	0
Sabina	Feridas pequenas em forma de bolões no osso da carcaça	40 dias	depois de 2 semanas	nenhum	nenhum	0
Comand Quf	Ferida traumática no metatarso posterior	3 meses	depois de 30 dias	nenhum	nenhum	0
Eddy	Ferida traumática na região de acorrentamento (queilóide)	48 dias	depois de 2 semanas	nenhum	nenhum	0
Linoite	Ferida traumática na parte anterior da região de acorrentamento posterior	4 meses and 12 dias	de início	nenhum	nenhum	0
Unno	Ferida crônica (queilóide) na parte anterior região de acorrentamento posterior	4 meses and 10 dias	lesão crônica	nenhum	nenhum	0
Sardo Nuovo	Feridas pequenas no flanco	2 semanas	de início	sudden	nenhum	0
Seafield Clover	Feridas pequenas no glúteo	3 semanas	de início	sudden	nenhum	0

Fig. 11