



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0900802-0 B1



(22) Data do Depósito: 12/03/2009

(45) Data de Concessão: 24/03/2020

(54) Título: FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E/OU COSMÉTICAS CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS ISOLADOS DE EXTRATOS DE BACCHARIS SPP.

(51) Int.Cl.: A61K 36/28; A61P 29/00; A61P 31/04; A61P 35/00; A61Q 11/00; (...).

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP; FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO - FAPESP.

(72) Inventor(es): AUGUSTO CÉSAR CROPANESE SPADARO; JAIRO KENUPP BASTOS; RENATA FONSECA VIANNA LOPEZ; DENISE PIMENTA DA SILVA LEITÃO; ANA CRISTINA MORSELI POLIZELLO; MATEUS FREIRE LEITE.

(57) Resumo: ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS ISOLADOS DE EXTRATOS DE BACCHARIS SPP., FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E/OU COSMÉTICAS E SEUS USOS A presente invenção refere-se a óleos essenciais e/ou compostos isolados de extratos de Baccharis spp., preferencialmente, Baccharis dracunculifolia D.C. Adicionalmente o presente pedido provê formulações farmacêuticas e/ou cosméticas, preferencialmente, microemulsões contendo o dito óleo essencial e/ou compostos isolados aplicados como agentes analgésicos, antiinflamatórios, cicatrizantes, antibacteriano, anticariogênico e/ou antineoplásicos, preferencialmente, como agentes para saúde bucal.

**“FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E/OU COSMÉTICAS CONTENDO
ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS ISOLADOS DE EXTRATOS DE
BACCHARIS SPP.”**

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção refere-se a óleos essenciais e/ou compostos isolados de extratos de *Baccharis spp.*, preferencialmente, *Baccharis dracunculifolia* D.C. Adicionalmente o presente pedido provê formulações farmacêuticas e/ou cosméticas, preferencialmente, microemulsões contendo o dito óleo essencial e/ou compostos isolados aplicados como agentes analgésicos, antiinflamatórios, cicatrizantes, antibacteriano, anticariogênico e/ou antineoplásicos, preferencialmente, como agentes para saúde bucal.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[002] O gênero *Baccharis* (família Asteraceae, tribo Astereae) está representado por mais de 500 espécies distribuídas principalmente em países sul-americanos. No Brasil estão descritas 120 espécies de *Baccharis*, com a maior parte delas localizadas na região sudeste do país. A grande concentração de espécies no Brasil, principalmente no cerrado e bordas da Mata Atlântica, indicam que estas regiões são possíveis centros de origem do gênero e devido à sua importância medicinal, comercial e ecológica, várias espécies de *Baccharis* têm atraído a atenção de pesquisadores das áreas de fitoquímica, farmacologia e biologia.

[003] Espécies do gênero *Baccharis* têm reputado uso na medicina caseira de países latino-americanos, sendo consumidas principalmente na forma de chás com indicações para disfunções gástricas e hepáticas, anemias, inflamações, diabetes ou doenças na próstata.

[004] Quimicamente a família *Baccharis* se destaca pela enorme diversidade de metabólitos secundários, sendo caracterizado pela presença de terpenóides, especialmente, triterpenos, diterpenos clerodanos e labdanos, flavonóides, especialmente, flavonas e flavonóis, fenilprenilados derivados do ácido p-cumárico e poliacetilenos. Seus principais metabólitos possuem ampla diversidade estrutural e variedade de atividades biológicas comprovadas, tais como atividade antitumoral, antioxidante, repelente de insetos, tripanocida e antiinflamatória.

[005] Particularmente, *Baccharis dracunculifolia* DC, popularmente conhecida como alecrim-do-campo ou vassoura, é um arbusto nativo das regiões sudeste e sul do Brasil, ocorrendo em áreas de solo pobre e pastagens abandonadas. É particularmente utilizada, na medicina popular, como antiinflamatório, cicatrizante e no tratamento de transtornos gastrointestinais. O decoto das folhas também é usado como antipirético. Algumas propriedades medicinais do extrato puro desta espécie já foram comprovadas, incluindo atividades tripanocida, antiulcerogênica, antimutagênica, e imunomoduladora.

[006] O óleo essencial de *B. dracunculifolia* também tem sido estudado, devido ao seu aroma exótico, forte e duradouro, o qual é altamente valorizado pela indústria de perfumes.

[007] Suas folhas e principalmente os ápices foliares são densamente pontuados por tricomas glandulares, estruturas de grande importância na interação desta espécie com insetos, especialmente abelhas. De acordo com diversos autores, *B. dracunculifolia* é a principal fonte botânica da própolis verde, uma variedade de própolis brasileira, preparada por abelhas (*Apis mellifera* africanizadas) a partir do processamento dos ápices

vegetativos desta planta.

[008] A própolis verde, por sua vez, vem se tornando cada vez mais popular, no Japão, Estados Unidos da América, China e países integrantes da comunidade européia em virtude de suas reconhecidas propriedades medicinais, incluindo atividades analgésica, antiinflamatória, antiulcerogênica, antibacteriana, atuando também como neuroprotetor e prevenindo o desenvolvimento de determinados tipos de câncer.

[009] Existem relatos de que os extratos puros de *B. dracunculifolia* apresentam efeito imunomodulatória, ativando macrófagos com consequente liberação de peróxido de hidrogênio e induzindo a produção de formas reativas de oxigênio em neutrófilos estimulados, dentro de um perfil dose-dependente. O extrato hidroetanólico de *B. dracunculifolia* também apresentou propriedade antiulcerogênica com eficácia semelhante ao da cimetidina ou omeprazol, em cobaias, diminuindo significativamente os índices de lesões da mucosa gástrica, a área total de lesão e a porcentagem de lesões, em comparação aos grupos-controle. O extrato vegetal também reduziu o volume de suco gástrico e a acidez total, ocasionando aumento do pH gástrico (KLOPELL F.C., LEMOS M., SOUSA J.P., COMUNELLO E., MAISTRO E.L., BASTOS J.K., DE ANDRADE S.F. Nerolidol, an antiulcer constituent from the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). *Z Naturforsch [C]*. 2007 Jul- Aug;62(7-8):537-42.).

[0010] A formação de microestruturas em soluções aquosas de tensoativos é um fenômeno comum de auto-organização molecular como forma de atingir a estabilidade termodinâmica.

[0011] Esse fenômeno torna-se a base para a aplicação tecnológica dos

tensoativos como sistemas organizados nas ciências biológicas.

[0012] Nos últimos anos a procura por novos sistemas de liberação de fármacos tem sido muito relevante no sentido de se estabelecer alternativas terapêuticas mais eficientes, que possibilitem administrar os fármacos com mais segurança e com efeitos colaterais minimizados.

[0013] Pesquisas avançadas têm sido realizadas concernentes aos sistemas micro e nanoestruturados de tensoativos, por sua capacidade em aumentar a eficácia terapêutica de fármacos, permitindo a redução da dose administrada e minimizando os efeitos colaterais potenciais dos fármacos. Os sistemas micro e nanoemulsionados são capazes de compartimentalizar fármacos nas gotículas da fase interna, as quais possuem propriedades físico-químicas bastante diferentes das do meio dispersante, induzindo modificações nas propriedades biológicas dos fármacos incorporados. Além disso, esses sistemas melhoram a solubilização de fármacos lipofílicos em água e os protegem contra hidrólise enzimática, além de aumentar o potencial de absorção devido à presença de tensoativo.

[0014] Em particular, as doenças dentais estão entre as mais prevalentes e onerosas nas sociedades industrializadas. A cárie dental é um dos processos infecciosos crônicos da cavidade bucal mais significativo em seres humanos, cuja causa multifatorial envolve as características físicas da cavidade bucal, a capacidade tamponante salivar, as espécies de microrganismos que integram a microbiota bucal, bem como, os desequilíbrios ecológicos sofridos por esta microbiota em resposta ao aumento do consumo de carboidratos fermentáveis na dieta alimentar.

[0015] Dentre os fatores primários, a placa dental bacteriana é considerada o principal fator etiológico para o desenvolvimento de cáries e

doenças periodontais. Trata-se de uma película incolor, aderente e não mineralizada, composta por diversas espécies bacterianas, sustentadas por uma matriz de proteínas salivares, polissacarídeos, células descamadas, leucócitos e restos alimentares, que se forma sobre a superfície dos dentes e tecidos gengivais em diferentes sítios da cavidade bucal.

[0016] Mas, ao contrário do que se possa supor, a colonização microbiana dos dentes pode ser benéfica, na medida em que contribui para a defesa da cavidade bucal contra a instalação de microrganismos patogênicos, através de mecanismos de competição. Portanto, a formação de uma placa dental patogênica irá ocorrer sempre que o equilíbrio ecológico for quebrado, e a composição e as atividades metabólicas desta complexa comunidade que compõe a placa dental forem modificadas.

[0017] O controle da placa dental é a chave para a prevenção da maioria das doenças da cavidade bucal, especialmente cáries e doenças periodontais, constituindo, ainda, um alvo para reduzir formação de manchas e cálculos dentais. Mesmo com o uso de escovas de dente em combinação com dentifrícios convencionais contendo 0,2% de fluoreto de sódio não é o bastante para remover toda a placa, especialmente aquela que se forma nas margens gengivais, espaços inter-proximais e fissuras dos dentes. Consequentemente, medidas adicionais para o controle da placa são necessárias. Agentes quimioterapêuticos, adicionados a dentifrícios, enxaguatórios bucais e outras formulações odontológicas incluem agentes quelantes que podem afetar as características físico-químicas da película salivar, sistemas detergentes que podem dispersar ou desprender a placa, e agentes antimicrobianos que reduzem a patogenicidade da placa dental remanescente, aderida aos dentes.

[0018] Atualmente várias tentativas para se eliminar espécies patogênicas da microbiota bucal, com antibióticos, por exemplo, ampicilina, eritromicina, penicilina, tetraciclina e vancomicina se mostram muito efetivas na prevenção da cárie dental. Todavia, o uso excessivo destes fármacos pode ocasionar desarranjos na microbiota oral e intestinal e causar efeitos colaterais indesejáveis tais como susceptibilidade a microrganismos, vômitos, diarreias e manchamento dos dentes.

[0019] Sanguinarina, um alcalóide isolado dos rizomas de *Sanguinaria canadensis*, que exibe um efeito antibacteriano de amplo espectro sobre bactérias bucais, tem sido usado como agente anticariogênico em uma grande variedade de produtos para higiene bucal, tais como, dentifrícios e enxaguatórios bucais, devido à sua alta eficácia. A sua aplicação industrial, porém, foi acentuadamente reduzida, devido a relatos de que sanguinarina estaria associada a casos de leucoplaquia oral, uma condição da cavidade bucal que envolve a formação de manchas brancas e fibrosas que se desenvolve na língua ou na parte interna da bochecha como resposta a uma irritação crônica.

[0020] O agente antimicrobiano mais eficaz usado, atualmente, no controle da cárie dental é a clorohexedina, uma bisbiguanida catiônica sintética que apresenta uma molécula simétrica, consistindo de dois anéis 4-clorofenil e dois grupos biguanida conectados por uma cadeia de hexametileno central (1,1'- hexametilenobis [5-(p-clorofenil) biguanida]). Tal composto pode se apresentar na forma de diversos sais, tais como, gluconato, digluconato, acetato e hidrocloreidrato, mas o sal de digluconato é a forma mais indicada, por apresentar maior solubilidade em meio aquoso e no pH fisiológico, dissociando-se para liberar o componente catiônico.

Ainda, comprovou-se que o composto reduz a incidência da cárie em animais e humanos. O composto também é capaz de inibir a formação de ácidos no biofilme já estabelecido, por algumas horas, após uma aplicação na concentração de 0,2%. A clorohexedina possui, ainda, alta afinidade pela hidroxiapatita do esmalte dental e seu elevado poder de retenção na cavidade bucal explica os seus efeitos clínicos prolongados. Em concentrações relativamente altas, a clorohexedina pode eliminar parcialmente o biofilme bacteriano e afetar, até certo ponto, o metabolismo das bactérias remanescentes. Porém, apesar de eficiente no combate à cárie dental, a clorohexedina apresenta efeitos adversos, causando o aparecimento de manchas marrons na superfície dental, além de deixar gosto metálico na boca, provocar náuseas e vômitos, dores abdominais, hipersalivação e desensibilização das papilas gustativas com consequente perda do paladar.

[0021] Outros processos infecciosos crônicos que afetam a cavidade bucal são as chamadas doenças periodontais, que abrangem as gengivites e as periodontites. Cerca de 3 em cada 4 pessoas sofrem destas doenças, e ao redor de 10% da população parece sofrer das formas mais severas, sendo provocadas principalmente por bactérias da placa bacteriana subgengival. As gengivites envolvem a inflamação da gengiva enquanto as periodontites provocam infecção de todos os tecidos periodontais.

[0022] Estudos mais recentes indicam, ainda, que as doenças periodontais constituem um fator de risco para as doenças cardiovasculares, na medida em que os microrganismos alojados na bolsa periodontal têm acesso à corrente sanguínea. Também podem ser transmitidas entre familiares através do compartilhamento de talheres e

outros fômites.

[0023] Marcadores genéticos de DNA indicam que famílias que têm pessoas com doença periodontal avançada, apresentam 30% de chance de apresentar a doença também, com futura perda dos dentes, se não houver tratamento. O tratamento periodontal consiste de procedimentos de raspagem da base dos dentes (bolsa periodontal), visando a higienização dos tecidos e remoção da placa bacteriana. Em quadros mais avançados, o tratamento cirúrgico e a antibióticoterapia são indicados. Mas já foi demonstrado que após 2 ou 3 anos o paciente não supervisionado volta a manifestar a doença. Portanto, a prevenção destas doenças é o mais recomendável, evitando-se a formação de placa dentária através de uma higienização eficaz.

[0024] Assim, diante de tais limitações, torna-se necessária a busca por novos agentes terapêuticos naturais que sejam eficazes e se mostrem seguros para seres humanos.

[0025] Microemulsões (ME) podem ser definidas como sistemas termodinamicamente estáveis, isotrópicos, transparentes, de dois líquidos imiscíveis, usualmente água e óleo, estabilizados por um filme de compostos tensoativos, localizados na interface óleo/água. Entretanto, a possibilidade de formar microemulsão depende do balanço entre as propriedades hidrofílicas e lipofílicas do tensoativo, determinada não somente pela sua estrutura química, mas também por outros fatores como temperatura, força iônica e a presença de co-tensoativo. A mistura de tensoativos com equilíbrio hidrófilo-lipófilo adequado proporciona a condição máxima de “solubilização” do óleo e da água. Assim, a formação da microemulsão geralmente envolve a combinação de três a cinco

componentes, tais como tensoativo, água, óleo e, quando necessário, o co-tensoativo, sendo que a orientação para sistemas O/A ou A/O é dependente das propriedades físico-químicas do tensoativo e do óleo, da relação entre as proporções tensoativo/co-tensoativo e entre as proporções água/óleo.

[0026] A principal característica desses sistemas é formar uma emulsão muito fina por homogeneização suave com fase aquosa, cujas dimensões das gotículas da fase interna é da ordem de nanômetros. As microemulsões são superiores às soluções micelares em termos de potencial de solubilização de substâncias, por isso, são usadas para aumentar a solubilização e a absorção de fármacos lipofílicos. Sua estabilidade termodinâmica oferece vantagens sobre as dispersões instáveis, tais como as suspensões e emulsões, possuindo tempo de vida útil muito mais amplo.

[0027] Nos últimos anos, tem aumentado o interesse na aplicação de microemulsões como sistema de liberação de fármacos, já que esses agregados apresentam-se descritos na literatura como sistemas reservatórios e permitem liberação lenta do fármaco, a qual proporciona efeito prolongado, evitando atingir concentração plasmática acima do necessário.

[0028] Dispersões coloidais óleo em água representam interessante perspectiva para o desenvolvimento de formulações, pois estas são utilizadas como veículos para liberação de fármacos pouco solúveis em água.

[0029] Diante de todo o exposto, a Depositante inovou, de forma inesperada, a caracterização dos óleos essenciais e isolados do extrato de *Baccharis* e sua aplicação em formas farmacêuticas e cosméticas em nanotecnologias.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[0030] A figura 1 mostra o fluxograma geral do procedimento de formulação dos produtos.

[0031] A figura 2 apresenta o diagrama de fases para obtenção dos produtos semi-acabados, porém, não sendo limitativo.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[0032] A presente invenção refere-se a óleos essenciais e/ou compostos isolados de extratos de *Baccharis* spp., preferencialmente, *Baccharis dracunculifolia* D.C. Adicionalmente o presente pedido provê formulações farmacêuticas e/ou cosméticas, preferencialmente, microemulsões contendo o dito óleo essencial e/ou compostos isolados aplicados como agentes analgésicos, antiinflamatórios, cicatrizantes, antibacteriano, anticariogênico e/ou antineoplásicos, preferencialmente, como agentes para saúde bucal.

[0033] Em uma primeira realização a presente invenção refere-se a óleos essenciais e/ou seus compostos isolados de extratos de *Baccharis* spp, como por exemplo, terpenos, flavonóides e/ou fenilpropanóides. Ainda, o presente pedido de patente classifica os seus compostos isolados em dois grupos: compostos majoritários, particularmente, ácido caféico, ácido ferúlico, isosakuranetina, aromadendrina-4'-metiléter, bacarina, e artepilin C e como compostos minoritários, como por exemplo, viscidona, friedelanol, lactona de ácido hautriwaico e ácido ursólico.

[0034] As espécies de *Baccharis* da presente invenção podem ser escolhidas entre *B. trimera*, *B. articulata*, *B. stenocephala*, *B. tridentata*, *B. microdonta*, *B. ligustrina*, *B. pseudotenuifolia*, *B. platipuda*, *B. crispa*, *B. microcephala*, *B. myriocephala*, *B. usterii*, *B. dentata*, *B. discolor*, *B. eliptica*,

B. erioclada, *B. fastigiata*, *B. gracilis*, *B. junciformis*, *B. lundii*, *B. martiana*, *B. minutiflora*, *B. multisulcata*, *B. opuntiioides*, *B. pentziaefolia*, *B. platypoda*, *B. serrulata*, *B. subdentata*, *B. tarchonanthoides*, *B. vernonioides*, entre outros, preferencialmente, *Baccharis dracunculifolia* D.C.

[0035] Particularmente, o presente pedido ainda se apresenta como extrato bruto de própolis verde brasileira, preparada por abelhas (*Apis mellifera* africanizadas) a partir do processamento dos ápices vegetativos de *Baccharis dracunculifolia* D.C..

[0036] Os óleos essenciais e/ou seus compostos isolados de extratos de *Baccharis* spp, do presente pedido, podem ser utilizados em concentrações de 0,01 a 30% em peso total da composição, sendo posteriormente incorporados nos diferentes sistemas e/ou diferentes vias de administração.

[0037] Em uma segunda realização, as formulações farmacêuticas e/ou cosméticas sugeridas pela presente invenção podem ser administrados por via bucal, oral, tópica, dérmica, transdérmica, ocular, vaginal, retal, uretral e nasal. De forma preferencial, as formulações da presente invenção destinam-se a produtos de uso odontológico e/ou dermo-cosmético, para fins terapêuticos e/ou de higiene bucal, tais como, enxaguatórios, dentifrícios (pasta, creme, gel ou pó), fio dental, vernizes, géis, filmes de rápida absorção, pastilhas, gomas de mascar, porém, não limitados a estes.

[0038] Muitos produtos naturais são insolúveis em água, resultando em baixa dissolução nos veículos de formulações além da pouca biodisponibilidade nos tecidos-alvo, assim, a veiculação dos óleos essenciais e/ou compostos isolados de extrato de *Baccharis* spp., nas formulações farmacêuticas e/ou cosméticas da presente invenção ocorre

através de micro e nanotecnologias.

[0039] A veiculação dos produtos naturais obtidos de espécies de *Baccharis*, através de microemulsões, possibilita a melhor solubilização dos princípios ativos, bem como, sua maior preservação contra degradação, oxidação e/ou hidrólise e maior disponibilidade no meio biológico, seja aumentando a penetração dos princípios ativos em biofilmes, seja aumentando sua absorção pelos tecidos. Além disso, a ampla combinação de veículos oleosos e aquosos com surfactantes e co-surfactantes possibilita a obtenção de uma grande variedade de formulações, sejam elas fluidas ou viscosas, em forma líquida, cremosa, pastosa ou gel, adequadas a diversas aplicações farmacêuticas, terapêuticas e cosméticas.

[0040] Preferencialmente, a formulação particular da presente invenção contém tensoativos, fases oleosas e aquosas, tais como, L- polietilenoglicol-8-caprilato/caprato, P-isoestearato de poligliceril, óleo de rícino hidrogenado e etoxilado, monooleato de sorbitano, monolaurato de sorbitano etoxilado, monopalmitato de sorbitano etoxilado, monoestearato de sorbitano etoxilado, monooleato de sorbitano etoxilado, monolaurato de sorbitano, monopalmitato de sorbitano, monoestearato de sorbitano, monooleato de sorbitano, glicerol, miristato de isopropila, oleato de etila, triglicérides dos ácidos cáprico/caprílico, polietilenoglicol-6-caprilato/caprato, poligliceril-6-dioleato e glicerídeos caprilato/caprato, dodecilpoliglicosídeo, carbopol, carboximetilcelulose, hidroxietilcelulose, polietilenoglicol, preferencialmente, óleo essencial de *Baccharis* spp.

[0041] Em uma terceira realização, o presente pedido destina-se aos usos das formulações farmacêuticas e/ou cosméticas indicadas como

composições analgésicas, antiinflamatórias, cicatrizantes, antioxidante, antibacteriana, anticariogênica e/ou antineoplásica.

[0042] As propriedades antimicrobianas óleos essenciais e/ou compostos isolados de extrato de *Baccharis* spp, possuem a capacidade de ativar e modular respostas do sistema imunológico celular, além de reduzir a acidez de mucosas, e prevenir e/ou reduzir lesões teciduais mediante agentes irritantes ou indutores.

[0043] Além disso, seu potencial como antioxidante, anti-inflamatório e cicatrizante, também pode ser explorado nas formulações aqui descritas.

[0044] Os óleos essenciais e/ou compostos de extratos de *Baccharis* spp. isolados inibem o desenvolvimento de determinadas espécies de bactérias bucais, envolvidas no processo de formação da cárie dental, através de mecanismos bactericidas e não-bactericidas quando utilizadas em formulações odontológicas, anti-sépticas e cosméticas empregadas na higiene bucal.

[0045] Os mecanismos não-bactericidas dos óleos essenciais e/ou compostos isolados de extrato de *Baccharis* spp. estão relacionados à inibição da produção bacteriana de ácidos, através da interferência direta de seus componentes químicos sobre a atividade de enzimas bacterianas, tais como, aquelas envolvidas no metabolismo de açúcares fermentáveis (via glicolítica), enzimas de membrana celular bacteriana, envolvidas no sistema transportador de açúcares, e enzimas bacterianas envolvidas na síntese de glucanas de adesão, também denominadas glucosiltransferases, responsáveis pelo acúmulo de bactérias nas superfícies dos dentes e formação do biofilme dental.

[0046] As propriedades antiinflamatórias e imunomodulatórias destes

extratos, também apontam grande potencial de aplicação na prevenção e tratamento de periodontites e outros processos inflamatórios da cavidade bucal, de origem bacteriana ou não. Além disso, ensaios toxicológicos empregando cultura de células revelaram que o extrato de *B. dracunculifolia* possui toxicidade inferior ao do digluconato de clorohexedina (grupo controle).

[0047] A atividade antioxidante dos componentes majoritários do presente extrato, bem como, sua interferência nas vias metabólicas mutagênicas e vias metabólicas bacterianas possivelmente explicam os efeitos antimutagênico e antibacteriano do extrato, respectivamente.

EXEMPLOS

[0048] Os sistemas micelares emulsionados, microemulsionados e nanoemulsionados foram obtidos através da construção de diagramas de fase, obtidos de maneira tradicional por titulação lenta de uma série de misturas de óleo/tensoativos com uma fase aquosa, à temperatura ambiente.

[0049] As misturas foram tituladas com água purificada, agitadas continuamente e as regiões de formação de microemulsões, nanoemulsões, emulsões e soluções micelares foram identificadas. As microemulsões foram identificadas como sistemas translúcidos, de baixa viscosidade e isotrópicos.

[0050] Foram construídos 4 diagramas (figura 2) com diferentes tipos e misturas de tensoativos, definindo as bases de formulações contendo óleos essenciais e/ou compostos isolados de extratos de *Baccharis* spp, suas frações cromatográficas e também algumas substâncias isoladas para uso por diferentes vias de administração.

[0051] A análise detalhada dos diagramas de fase mostra que a mistura dos componentes das microemulsões em diferentes proporções podem gerar vários tipos de agregados nos limites desses diagramas. Assim, no domínio dos agregados polimorfos pode-se detectar a existência das emulsões, microemulsões, soluções micelares e cristais líquidos. Nessas várias formas de agregação, microemulsões e cristais líquidos podem influenciar diferentemente a velocidade de liberação dos fármacos. Como sistemas reservatórios podem alterar os parâmetros farmacocinéticos, diminuindo a toxicidade e aumentando a eficácia clínica de fármacos.

[0052] Os sistemas que veiculam os extratos de *Baccharis*, considerando seus tensoativos, fases oleosas e aquosas, são compostos por: Labrasol® (L-polietilenoglicol-8-caprilato/caprato) 2,00 a 89,0%, Plurol® (P-isoestearato de poligliceril) 2,00 a 89,0%, PEG 40 (óleo de rícino hidrogenado e etoxilado) 2,00 a 89,0%, Sorbitol (monooleato de sorbitano) 0,01 a 89,0%, Glicerol 0,01 a 9,0%, Tween® 20, 40, 60, 80 (monolaurato de sorbitano etoxilado, monopalmitato de sorbitano etoxilado, monoestearato de sorbitano etoxilado, monooleato de sorbitano etoxilado) 2,00 a 89,0%, Span® 20, 40, 60, 80 (monolaurato de sorbitano, monopalmitato de sorbitano, monoestearato de sorbitano, monooleato de sorbitano) 2,00 a 89,0%, Miristato de Isopropila 0,01 a 89,0%, Oleato de Etila 0,01 a 89,0%, Triglicérides dos ácidos cáprico/caprílico 0,01 a 89,0%, Óleo essencial de *Baccharis* 0,01 a 10,0%, Mackaderm MicroExpress® (polietilenoglicol-6-caprilato/caprato, poligliceril-6-dioleato e glicerídeos caprilato/caprato) 2,00 a 80,0%, dodecilpoliglicosídeo 0,01 a 89,0%, Carboximetilcelulose 0,01 a 15,0%, Carbopol® 0,01 a 15,0%, Hidroxietilcelulose 0,01 a 15,0%, PEG 30 a 20.000 (polietilenoglicol) 0,01 a

89,0% e água em todas elas, em concentrações de 0,01 a 95,0%.

[0053] A título de exemplo foram construídos diagramas com diferentes tipos e misturas de tensoativos, contendo extrato bruto hidroetanólico de *Baccharis dracunculifolia* e óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*.

DIAGRAMA 1

[0054] Apresenta uma fase oleosa composta por oleato de etila, a fase aquosa por água e a mistura de tensoativo e co-tensoativo composta por Labrasol® (L-polietilenoglicol-8-caprilato/caprato) e Plurol® (P-isoestearato de poligliceril) na proporção de 3:1.

DIAGRAMA 2

[0055] Apresenta uma fase oleosa composta por oleato de etila, a fase aquosa por água e a mistura de tensoativo e co-tensoativo composta por PEG 40 (óleo de rícino hidrogenado e etoxilado) e Sorbitol na proporção de 2:1 (PSO).

DIAGRAMA 3

[0056] Apresenta uma fase oleosa composta por miristato de isopropila, a fase aquosa por água e a mistura de tensoativo e co-tensoativo composta por PEG 40 (óleo de rícino hidrogenado e etoxilado) e Sorbitol na proporção de 2:1(PSM).

DIAGRAMA 4

[0057] Apresenta uma fase oleosa composta por oleato de etila e óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*, a fase aquosa por água e a mistura de tensoativo e co-tensoativo composta por PEG 40 (óleo de rícino hidrogenado e etoxilado), Sorbitol e Glicerol na proporção de 1:1:1(PSG).

DIAGRAMA 5

[0058] Apresenta uma fase oleosa composta por oleato de etila e óleo

essencial de *Baccharis dracunculifolia*, a fase aquosa por Água e a mistura de tensoativo e co-tensoativo composta por L- polietilenoglicol-8-caprilato/caprato, P-isoestearato de poligliceril.

DIAGRAMA 6

[0059] Apresenta uma fase oleosa composta por Triglicerídeos dos ácidos cáprico/caprílico e óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*, a fase aquosa por Água e a mistura de tensoativo e co-tensoativo composta por L- polietilenoglicol-8-caprilato/caprato, P- isoestearato de poligliceril.

DIAGRAMA 7

[0060] Apresenta uma fase oleosa composta por oleato de etila e óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*, a fase aquosa por Água e a mistura de tensoativo e co-tensoativo composta por monooleato de sorbitano e monooleato de sorbitano etoxilado na proporção de 1:2.

DIAGRAMA 8

[0061] Apresenta uma fase oleosa composta por oleato de etila e óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*, a fase aquosa por Água e a mistura de tensoativo e co-tensoativo composta por monooleato de sorbitano e monolaurato de sorbitano etoxilado na proporção de 1:3.

[0062] Posteriormente, foram selecionados sistemas dos 8 diagramas a fim de se verificar a influência tanto da (i) porcentagem de óleo como da (ii) mistura de diferentes tensoativos citados na veiculação do extrato e óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*. Os diagramas obtidos apontam as quantidades exatas de fase oleosa, tensoativos e fase aquosa utilizados na obtenção destes sistemas. O extrato de *Baccharis dracunculifolia* foi solubilizado na mistura fase oleosa/tensoativo, durante o preparo dos sistemas selecionados.

MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA

[0063] Amostras selecionadas dos diagramas de fases obtidos foram observadas em microscópio de luz polarizada. Foram examinadas amostras que apresentaram transparência (possíveis microemulsões), mas também foram examinadas as amostras translúcidas que por ventura foram formadas. Amostras com estas características podem ser altamente birrefringentes e possibilitam a identificação de fase lamelar, por exemplo, que pode também ser utilizada como sistema de liberação.

ESTABILIDADE

[0064] As microemulsões selecionadas foram centrifugadas imediatamente após o preparo a 5000g por 15 minutos, à temperatura ambiente, a fim de se determinar sua estabilidade como um sistema isotrópico de fase única ou não.

TAMANHO DAS GOTÍCULAS

[0065] O tamanho de gotículas dos sistemas selecionados foi determinado com o auxílio de um aparelho Light Scattering Zetasizer 4700 (Malvern Instruments, UK).

REOLOGIA

[0066] Para a determinação do comportamento reológico das amostras pré-selecionados, foi utilizado um Reômetro Brookfield, modelo DV-III V 3.3 LV, acoplado a um computador com Software Rheocalc V1.1 Brookfield Engineering Laboratories com a utilização de *spindle* SC4-18 e 12 mL de amostra, à 25°C. As medições foram realizadas em velocidades progressivamente maiores (intervalos de 20rpm, de 20 até 200rpm) para a obtenção da curva ascendente e em velocidades progressivamente menores (intervalo de 20rpm, de 200 a 20rpm), no retorno, para obtenção da curva

descendente.

CONDUTIVIDADE

[0067] A condutividade (em $\mu\text{S}/\text{cm}$), dos sistemas selecionados, foi determinada à temperatura ambiente com o auxílio de um condutivímetro modelo MCA 150 (Tecnopom) a fim de se predizer se o sistema em estudo apresenta água ou óleo na fase externa. A adição de água nas misturas pré-selecionadas de fase oleosa e tensoativos foi monitorada quantitativamente medindo-se a condutividade elétrica. A fase aquosa foi adicionada progressivamente em quantidades de 250 μL nas misturas fase oleosa/tensoativos.

PH

[0068] Os sistemas selecionados tiveram os valores de pH determinados por um pH-metro, modelo 710A (Orion), através de um eletrodo de bulbo fino (modelo 8103, RossTM Orion).

ÍNDICE DE REFRAÇÃO

[0069] O índice de refração dos sistemas selecionados foi determinado através de refratômetro digital ABBE Mark II, por adição de uma alíquota de 50 μL da amostra na câmara do mesmo, seguido de leitura manual.

DETERMINAÇÃO DO PERFIL DO FILTRADO, POR CROMATOGRAFIA

LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

[0070] A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi utilizada para análise do perfil do extrato bruto etanólico de *Baccharis dracunculifolia* e do resíduo filtrado de alguns sistemas selecionados. Para as análises em cromatografia líquida de alta eficiência foram empregados solventes de grau cromatográfico e a água empregada na preparação das soluções foi purificada em sistemas de filtro MILLI-Q-PLUS da MILLIPORE. Todos os

solventes e soluções empregados como fases móveis em CLAE foram filtrados em membrana de nitrato de celulose. As análises foram realizadas em cromatógrafo de fase líquida de alta eficiência, equipado com controlador SCL-10A ν p, com três bombas LC-10AD, detector de arranjo de diodos modelo SPD - M10A ν p, e sistema controlador computadorizado com software Shimadzu Class-VP versão 5.02. Também foi utilizada uma coluna cromatográfica analítica de fase reversa Shim-pack CLC - ODS (M), Shimadzu, 4,6 mm x 250 mm, diâmetro de partícula 5 μ m e diâmetro de poro 100Å, protegida por pré-coluna C18 SGE.

DENSIDADE

[0071] A densidade, relação entre massa e volume, foi determinada pela densidade relativa, que é a relação entre a densidade absoluta de uma substância e a densidade absoluta de outra substância estabelecida como padrão. Para este caso, a substância padrão foi água purificada. A densidade relativa dos sistemas selecionados foi determinada à temperatura de 20°C, pelo método tradicional do picnômetro. A densidade da amostra (sistema selecionado) foi calculada através de uma equação, onde: d = densidade; M0 = massa do picnômetro vazio; M1 = massa do picnômetro com água purificada a 20°C; e M2 = massa do picnômetro com a amostra a 20°C.

[0072] Foram selecionados sistemas dos diagramas obtidos a fim de se verificar a influência tanto da (i) porcentagem de óleo como da (ii) mistura de diferentes tensoativos na veiculação dos extratos de *Baccharis*. Para o enxaguatório bucal, preferencialmente, foram escolhidos os sistemas com maior conteúdo aquoso e com menor viscosidade.

TABELA 1

Componentes	Concentração
Fluoreto de sódio	0,00 – 0,20%
Benzoato de sódio	0,05 – 0,15%
Metilparabeno	0,01 – 0,20%
Sacarina sódica	0,01 – 0,25%
Xilitol	0,50 – 2,50%
Mentol	0,01 – 0,05%
Aroma de Hortelã	0,01 – 5,00%
Aroma de Menta	0,01 – 5,00%
Óleo essencial de <i>Baccharis</i>	0,01 – 10,00%
Extrato de <i>Baccharis</i>	0,001 – 30,00%
PEG 40	0,01 – 20,00%
Sorbitol	0,01 – 20,00%
Glicerol	0,01 – 20,00%
Água purificada	q.s.p. 100,00%

REIVINDICAÇÕES

1. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E/OU COSMÉTICAS, **caracterizadas pelo** fato de compreenderem extrato hidroalcoólico de *Baccharis spp* na concentração de 0,001 a 30% e 0,01 a 10,00% de óleo essencial e sistemas que apresentam tecnologia micro e nano, preferencialmente microemulsões, formados pelas misturas de óleo/tensoativos com uma fase aquosa, ditos sistemas que veiculam os extratos de *Baccharis*, considerando seus tensoativos, fases oleosas e aquosas compostos por: L-polietilenoglicol-8-caprilato/caprato 2,00 a 89,0%; P-isoestearato de poligliceril 2,00 a 89,0%; óleo de rícino hidrogenado e etoxilado 2,00 a 89,0%; monooleato de sorbitano 0,01 a 89,0%; Glicerol 0,01 a 9,0%; monolaurato de sorbitano etoxilado, monopalmitato de sorbitano etoxilado, monoestearato de sorbitano etoxilado, monooleato de sorbitano etoxilado (20, 40, 60, 80) 2,00 a 89,0%; monolaurato de sorbitano, monopalmitato de sorbitano, monoestearato de sorbitano, monooleato de sorbitano (20, 40, 60, 80) 2,00 a 89,0%; Miristato de Isopropila 0,01 a 89,0%, Oleato de Etila 0,01 a 89,0%; Triglicérides dos ácidos cáprico/caprílico 0,01 a 89,0; Óleo essencial de *Baccharis* 0,01 a 10,0%, polietilenoglicol-6-caprilato/caprato, poligliceril-6-dioleato e glicerídeos caprilato/caprato 2,00 a 80,0%; dodecilpoliglicosídeo 0,01 a 89,0%; Carboximetilcelulose 0,01 a 15,0%; polímero acrílico hidrossolúvel 0,01 a 15,0%; Hidroxietilcelulose 0,01 a 15,0%; PEG 30 a 20.000 (polietilenoglicol) 0,01 a 89,0% e água em todas elas, em concentrações de 0,01 a 95,0%.

2. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E/OU COSMÉTICAS, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizadas pelo** fato de preferencialmente o óleo essencial e compostos isolados utilizados serem de *B. dracunculifolia*.

3. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E/OU COSMÉTICAS, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizadas pelo** fato de os compostos isolados de *Baccharis* serem, preferencialmente, terpenos, flavonoides e/ou fenilpropanoides.

4. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E/OU COSMÉTICAS, de acordo com as reivindicações 1 a 2, **caracterizadas pelo** fato de as formulações serem apresentadas nas formas farmacêuticas de via bucal, oral, tópica, dérmica, transdérmica, ocular, vaginal, retal, uretral e nasal.

5. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E/OU COSMÉTICAS, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizadas pelo** fato de as formulações compreenderem, preferencialmente, formulações odontológicas e/ou dermo-cosméticas.

6. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E/OU COSMÉTICAS, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizadas pelo** fato de as formulações odontológicas compreenderem mais preferencialmente ainda enxaguatórios, dentifrícios, tais como, pasta, creme, gel e/ou pó, fio dental, vernizes, géis, filmes de rápida absorção, pastilhas e/ou gomas de mascar.

7. FORMULAÇÃO, de acordo com as reivindicações 1 a 6, **caracterizada por** ser um enxaguatório bucal consistido pelo sistema definido por: fluoreto de sódio 0,00 – 0,20%; benzoato de sódio 0,05 – 0,15%; metilparabeno 0,01 – 0,20%; sacarina sódica 0,01 – 0,25%; xilitol 0,50 – 2,50%; mentol 0,01 – 0,05%; aroma de hortelã 0,01 – 5,00%; aroma de menta 0,01 – 5,00%; óleo essencial de *Baccharis* 0,01 – 10,00%; extrato de *Baccharis* 0,001 – 30,00%; Sorbitol 0,01 – 20,00%; Glicerol 0,01 – 20,00%; água purificada q.s.p. 100,00%.

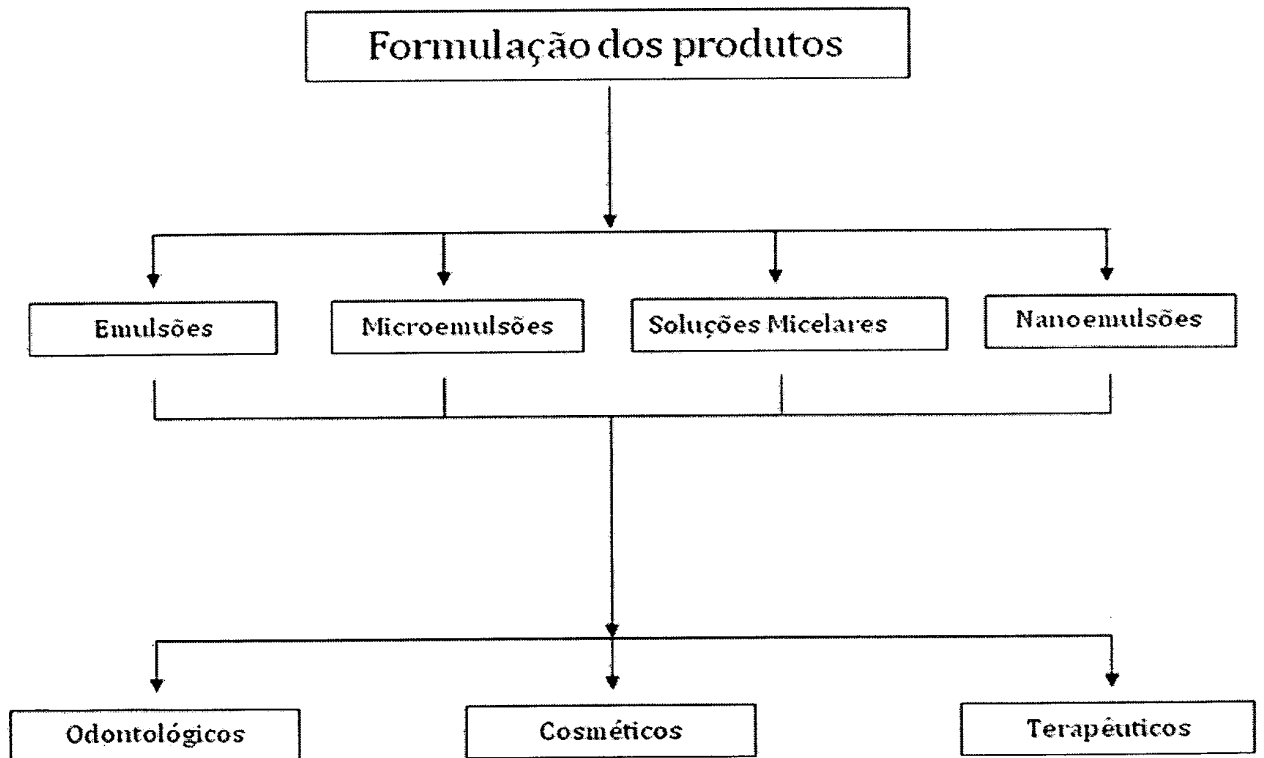
FIGURA 1

FIGURA 2