



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

**(21) PI 1105457-3 A2**



\* B R P I 1 1 0 5 4 5 7 A 2 \*

(22) Data de Depósito: 07/01/2011  
(43) Data da Publicação: 12/11/2013  
(RPI 2236)

**(51) Int.Cl.:**  
**A61K 36/85**  
**C11B 9/00**  
**A61P 33/02**

**(54) Título:** FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA  
DERIVADA DE ÓLEO ESSENCIAL DE LIPPIA  
ORIGANOIDES H.B.K.

**(73) Titular(es):** Universidade Federal do Piauí

**(72) Inventor(es):** Antonia Maria das Graças Lopes Citó, José  
Arimatéia Dantas Lopes, Maria das Graças Freire de Medeiros, Regina  
Célia Bressan Queiroz de Figueredo, Túlio Flávio Accioly de Lima e  
Moura

**(57) Resumo:** FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA DERIVADA DE  
ÓLEO ESSENCIAL DE Lippia origanoides. A presente invenção se  
refere a formulações farmacêuticas à base do óleo essencial de Lippia  
origanoides H.B.K., de seus complexos de inclusão de 13-ciclodextrina  
com o óleo essencial em veículo(s), diluente(s), solvente(s) e/ou  
excipiente(s) farmacêuticamente aceitável (eis), para uso humano e  
veterinário, destinados a administração pelas vias oral e tópica, com  
aplicações no tratamento de infecções microbianas e parasitárias, em  
especial as leishmanioses.

**FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA DERIVADA DE ÓLEO ESSENCIAL  
DE *Lippia origanoides* H.B.K.**

**CAMPO DA INVENÇÃO**

A presente invenção se refere ao desenvolvimento tecnológico de produtos, a partir do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K., obtidos através da incorporação do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. em substâncias complexantes, tais como ciclodextrinas. Mais particularmente a invenção trata da comprovação da atividade leishmanicida do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. e dos produtos tecnologicamente desenvolvidos a partir do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. Ainda mais particularmente a invenção trata da incorporação do óleo essencial e dos derivados do óleo essencial, em formas farmacêuticas semi-sólida, sólida e líquida para o tratamento das leishmanioses em humanos e animais.

**FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO**

As leishmanioses são atualmente consideradas como uma das cinco doenças infecto-parasitárias endêmicas de maior relevância, com pelo menos 15 - 20 milhões de pessoas infectadas, e aproximadamente dois milhões de novos casos por ano, segundo a Organização Mundial de Saúde. O Brasil está entre os cinco países do mundo, que relatam mais de 90% dos casos de leishmaniose visceral e entre os sete com 90% dos casos de leishmaniose cutânea. (DESJEUX, 2004).

O tratamento de primeira escolha para leishmaniose é feito com antimoniais pentavalentes, estibogluconato de sódio (Pentostan) e o antimoniato de N-methyl glucamine (Glucantime), os quais foram introduzidos como quimioterápicos na década de 40 sendo utilizados até hoje, como principal ferramenta terapêutica disponível. (BRASIL, 2007). Os principais problemas enfrentados hoje para o tratamento da leishmaniose são representados pela alta toxicidade para seres humanos e animais, a administração requer internação hospitalar. As formas farmacêuticas disponíveis para tratamento das leishmanioses envolvem processo invasivo, utiliza a via de administração parenteral, além de baixa tolerância pelos pacientes.

A resistência dos parasitas aos medicamentos disponíveis tem limitado ainda mais as possibilidades de tratamento.

## TÉCNICA RELACIONADA

O Brasil tem a maior biodiversidade do mundo, um terço da flora mundial representada em dez biomas, incluindo um grande número de microorganismos, plantas e animais que representam uma interessante fonte de moléculas biologicamente ativas (BASSO et al., 2005).

Os compostos naturais, além de diversos, apresentam como vantagem, em relação aos sintéticos, a especificidade nas suas atividades biológicas, característica atribuída à capacidade de se ligarem a receptores biológicos (VILLAS BOAS e GADELHAS, 2005).

A espécie vegetal *Lippia origanoides* Humboldt, Bonpland e Kunth (H.B.K.), pertencente à família verbenaceae, é um arbusto aromático que pode atingir até 3 m de altura, encontrado em toda América Central, América do Norte, América do Sul e Antilhas. É uma planta muito utilizada na medicina popular brasileira; no México é utilizada como condimento substituto do orégano mexicano - a *Lippia graveolens* HBK - na preparação de alimentos. A alta concentração de carvacrol no óleo essencial é o marcador para qualificar a adequabilidade da planta para ser usado na preparação de condimentos para alimentos (OLIVEIRA et al., 2007).

No Brasil, essa planta está amplamente distribuída nas regiões Norte e Nordeste, principalmente nos estados do Pará e Piauí.

No Piauí é conhecida popularmente como alecrim do campo e no estado do Pará como Salva-de-Marajó e Alecrim-d'Angola. Na medicina tradicional é usada para tratamento de doenças respiratórias e da pele. Em estudo etnobotânico realizado na cidade de Oriximiná (Pará-Brasil) foi evidenciada uma ampla utilização da espécie vegetal *Lippia origanoides* H.B.K. nos tratamentos de estomatite, cólicas, indigestão, diarreia, náusea, anti-séptico e antiparasitário (DOS SANTOS et al., 2004, OLIVEIRA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007).

Estudos *in vitro* com o óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. demonstrou atividade antimicrobiana contra *Echerichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* MRSA e dos fungos *Candida albicans* e *Candida* (SANTOS, 1998).

As propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais de espécies vegetais são reconhecidas há muito tempo, sendo observadas nas últimas décadas, mais

aplicabilidades destas substâncias em diversas áreas (BAKKALI et al., 2008). Os óleos essenciais são considerados misturas de constituintes químicos voláteis, lipofílica, geralmente odorífera, obtidos de várias partes vegetais. As variações quantitativamente e qualitativamente observadas podem ser atribuídas aos fatores como tipo de solo, clima, tipo de adubação, época da coleta e localização geográfica (BURT, 2004). Normalmente, os componentes majoritários determinam as propriedades biológicas dos óleos essenciais; e os compostos ativos mais importantes, em geral, são incluídos em dois grupos químicos: terpenos e fenilpropanóides (BAKKALI et al., 2008).

Os componentes fenólicos, majoritários em alguns óleos, são os mais ativos e parecem agir principalmente como promotores de permeação de membrana celular e representam um potencial terapêutico para diversas doenças (BURT, 2004). Nas doenças parasitárias podem atuar por pelo menos, dois mecanismos de ação diferentes, aos quais podem ser atribuídos às suas propriedades imunomoduladoras e seus efeitos antiparasitários (ANTHONY et al., 2005; COSENTINO et al., 1999).

Os trabalhos citados na literatura, com plantas do gênero *Lippia*, na área de química, abordam a similaridade de composição química consistente em alguns compostos, principalmente os monoterpenos oxigenados: carvacrol e timol, sendo observadas variações qualitativas e quantitativas na composição química inter e intra-espécie (OLIVEIRA et al., 2009, CRAVEIRO et al., 1981; DOS SANTOS et al., 2004; NEVES et al., 2008; STASHENKO et al., 2008).

Stashenko e colaboradores (STASHENKO et al., 2010) identificaram três quimiotipos diferentes da espécie *Lippia origanoides* H.B.K., na Colômbia, classificando-os de acordo com seus constituintes majoritários, principalmente o carvacrol, o  $\rho$ -cimeno e o timol, tomando como referências outros quimiotipos já citados na literatura. As características dos quimiotipos descritos por Stashenko e colaboradores, identificam que a espécie encontrada no Brasil corresponde ao tipo B colombiana, com alta concentração de carvacrol, cerca de 40%,  $\rho$ -cimeno, aproximadamente 15% e o timol 18% (DOS SANTOS et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007).

As atividades antioxidantes e antimicrobianas de amplo espectro,

demonstrado nas pesquisas, foram relacionadas aos quimiotipos que apresentam altas concentrações de monoterpenos fenólicos, como o carvacrol e o timol. (STASHENKO et al., 2008; STASHENKO et al., 2010).

5 Estudos na área toxicológica com a *Lippia origanoides* H.B.K. e os seus componentes majoritários, carvacrol e timol, não apresentaram problemas de toxicidade que limite o uso em humanos e foi mostrada ainda atividade antígeno-tóxica frente aos danos de DNA induzido pela Bleomicina, sendo classificados como fontes promissoras de fármacos quimioterápicos (VICUÑA et al., 2009).

10 Com relação à literatura patentária foi encontrado somente um documento para a espécie vegetal *Lippia affinis origanoides*, o documento PI9305413-0, que descreve a atividade anti-hipertensiva da *Lippia affinis origanoides* e obtenção de medicamento para tratamento da hipertensão. O produto foi denominado de “Lippia Lordellia”.

15 Outros documentos de patente, aqui citados como referência, foram encontrados com outras espécies do gênero *Lippia*.

O documento PI080488-8 descreve extratos de *Lippia salviaefolia* Cham e composições farmacêuticas e/ou cosméticas usadas como conservantes naturais através da atividade antimicrobiana demonstrada contra fungos bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, leveduras e fungos.

20 O documento PI0706182-0 descreve o uso de uma composição para sedar ou anestésiar animais aquáticos, em especial peixes, compreendendo um extrato de plantas do gênero *Lippia*, em especial *Lippia alba*, envolvendo também o método de sedação e anestesia dos animais aquáticos em tanques e aquários. O processo de sedação e anestesia dos peixes envolve a forma da composição e o método de adição dos extratos de planta da espécie *Lippia alba* a águas dos tanques e aquários.

O documento PI9902911-1 descreve um larvicida obtido a partir da espécie vegetal *Lippia sidoides* Cham. contra o mosquito *Aedes aegypti*.

30 O documento PI0602027-5 descreve composição de dois produtos de formulações a base de óleo essencial de *Lippia sidoides*: composições de loções e composições de velas, ambos recomendados para proteção pessoal contra mosquito *Aedes aegypti* transmissor da dengue e da febre amarela.

O documento WO 01/015680 descreve uma composição farmacêutica incluindo óleos extraídos de plantas das famílias Labitaceae e Verbenaceae, em especial a formulação obtida através da reação de compostos fenólicos dos óleos essenciais com ácido orgânicos ou sais do grupo I (cloreto de sódio e cloreto de potássio). De acordo com a descrição, o produto da reação dos compostos fenólicos orgânicos com sais do grupo I ou ácidos orgânicos é responsável pela atividade antimicrobiana da composição farmacêutica.

O documento PI0704902-1 descreve a obtenção de partículas contendo constituintes de compostos voláteis e extratos da espécie vegetal *Lippia sidoides*, na presença de substâncias carreadoras, tais como monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos, polissacarídeos, gomas, amidos e derivados de amidos quimicamente modificados, que compreende um material particulado obtido por técnica de processo de secagem spray drying.

A produção de formas farmacêuticas a partir de plantas medicinais requer desenvolvimento do processo tecnológico de fabricação e os parâmetros de qualidade (SONAGLIO et al., 2003).

Atualmente há um grande busca de rotas menos invasivas de administração de fármacos. A via tópica é bastante desejável, uma vez que as formas farmacêuticas de aplicação tópica liberam o fármaco na pele, considerada o maior órgão em termos de extensão e possibilidade de área de contato, viabilizando o tratamento localizado ou sistêmico, tornando a pele um órgão alvo para administração de medicamentos (ANSEL et al., 2000).

As preparações farmacêuticas de produtos naturais, em especial, envolvendo substâncias líquidas voláteis têm as etapas do processo de produção e armazenamento simplificado, quando são tecnologicamente transformados em forma física sólida, uma vez que seu manuseio no processo de produção se torna mais fácil, quando comparada a uma substância líquida volátil.

O processo de confinamento de fármaco em sistemas de transportes e direcionamento, como os complexos de inclusões, lipossomos, conjugações, com moléculas de baixo peso molecular ou polimérico, são estratégias adotadas que permitem contornar limitações como solubilidade, instabilidade química e direcionamento ao órgão alvo (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007; ARUN et al.,

2008). O confinamento protege o óleo essencial de fatores de instabilidades, tais como: exposição ao oxigênio do ar, luz, calor, prevenindo a decomposição química e oxidação.

Em nenhum dos documentos citados, relacionados à espécie vegetal *Lippia*  
5 *origanoides* H.B.K., é mencionada a utilização do óleo essencial, dos seus análogos  
e/ou dos seus derivados em composições farmacêuticas com atividade leishmanicida  
e/ou usadas no tratamento das leishmanioses. Da mesma forma, não são  
mencionados os óleos essenciais de *Lippia origanoides* H.B.K., nem a atividade  
leishmanicida contra *Leishmania amazonensis*, causadora de leishmanioses cutânea,  
10 cutânea difusa, mucosa e visceral.

### **SUMÁRIO DA INVENÇÃO**

Em um primeiro aspecto a presente invenção propõe a obtenção do óleo  
essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. e caracterização da atividade leishmanicida  
de composições farmacêuticas a base de extratos desta planta e de complexo de  
15 inclusão do óleo essencial com ciclodextrina e a das composições farmacêuticas para  
uso tópico em loções, emulsões e géis.

Em um segundo aspecto a presente invenção tem por objetivo o  
desenvolvimento de um processo tecnológico de transformação do óleo essencial de  
*Lippia origanoides* H.B.K. e seus derivados e análogos em composições  
20 farmacêuticas para o tratamento das leishmanioses.

### **DESCRIÇÃO DETALHADA DA PATENTE**

Para que a invenção possa ser mais bem compreendida e avaliada, sua  
descrição detalhada será feita a seguir. Contudo, as informações e exemplos aqui  
apresentados têm como objetivo elucidar o potencial leishmanicida das composições  
25 a base de *Lippia origanoides* H.B.K. e ilustrar possíveis aplicações da invenção, em  
especial, das formas farmacêuticas tópicas em sistemas emulsionados, cremes e  
loções ou em sistemas de bases poliméricas gelificadas e as possíveis aplicações na  
terapêutica da leishmaniose, sem, contudo, limitá-la, tendo em vista a possibilidade  
de aplicação das formas farmacêutica à base das composições óleo essencial e  
30 complexo de inclusões de óleo essência de *Lippia origanoides* H.B.K. para  
tratamento de outras infecções microbianas e aplicações quimioterápicas.

As atividades leishmanicida da composição óleo essencial e das composições

a base de extrações da espécie vegetal *Lippia origanoides* H.B.K e de seus produtos derivados foram demonstradas em cepas de *Leishmania amazonensis*, espécie de parasita causador da leishmaniose cutânea, cutânea-difusa, mucocutânea e leishmaniose visceral, no homem e em outros mamíferos.

#### 5 **Exemplo1: Composição óleo essencial**

A composição óleo essencial compreende um produto de extração das partes aéreas da *Lippia origanoides* H.B.K., obtido por processo de hidrodestilação, podendo também ser obtidos por CO<sub>2</sub> supercrítico. O óleo essencial extraído das partes aéreas da *Lippia origanoides* H.B.K. apresentou características organolépticas definidas como líquido levemente amarelado, com odor característico. A extração por hidrodestilação se torna preferencial nos processos de extração de material vegetal devido à simplicidade de operação, baixo custo de instalação e ainda pelas características dos óleos essenciais possuem uma tensão de vapor mais elevada que a da água, sendo, portanto arrastado pelo vapor d'água e por apresentarem densidades diferentes da água, tem sua separação facilitada.

A padronização do processo de extração do óleo foi realizada através do controle do parâmetro tempo, durante o processo de obtenção do mesmo. O processo de extração foi monitorado no intervalo de 0,5 a 5 horas, sendo utilizado o rendimento do processo extrativo em óleo essencial como parâmetro de otimização.

20 A composição óleo essencial foi obtida com rendimento de até 10 %.

A padronização do material vegetal também foi determinada quanto ao uso de material vegetal fresco ou seco. As partes aéreas da *Lippia origanoides* H.B.K. foram coletadas, selecionadas e divididas em duas porções, uma para extração imediata e a outra submetida à secagem em diferentes condições de temperaturas, tais como temperatura ambiente por uma semana, e em estufa a 45°C por 48 horas. O rendimento em teor de óleo essencial obtido foi calculado em relação a 100 g de material vegetal. O material vegetal seco e fresco foi triturado em moinho analítico, antes de ser submetido à extração.

30 As partes aéreas da planta fresca e da planta seca foram submetidas ao processo de hidrodestilação na proporção de 1:15 material vegetal:água (m/m). O processo de extração foi monitorado a cada 30 minutos, até o final do período de cinco horas.

O rendimento do óleo essencial foi expresso em percentagem (%) volume/massa, ou seja, volume (mL) de óleo essencial por massa (g) de material vegetal.

O perfil cromatográfico do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. foi determinado por cromatografia gasosa acoplada espectro de massas e identificados através da comparação com os espectros da biblioteca computacional Willey229. Os constituintes voláteis foram identificados com seus respectivos tempos de retenção, similaridade e índices de Kóvats calculados e dados da literatura (ADAMS, 2007). Os constituintes majoritários identificados no perfil cromatográfico do óleo essencial:  $\rho$ -cimeno,  $\gamma$ -terpineno, carvacrol e timol, corresponderam a cerca de 90% do volume total do óleo, mostrado na Figura 1(Cromatograma do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K., destacando os principais constituintes:  $\rho$ -cimeno (1),  $\gamma$ -terpineno (2), carvacrol (3) e timol (4)).

#### **Exemplo 2: Composição do complexo de inclusão do óleo essencial**

A aplicação das ciclodextrinas na formação de complexos com óleos essenciais objetiva aumentar a viabilidade de aplicação dos óleos essenciais, tornando-os mais estáveis e modificando as propriedades físico-químicas (TIAN, et al., 2008). Além disso, a complexação se aplica ainda para melhorar a estabilidade ao calor da molécula incluída, reduzindo a volatilidade e tornando possível a transformação de líquidos em sólidos, mais adequados a manipulação (LOFTSSON e DUCHÊNE, 2007).

A composição na forma física sólida, obtida através da inclusão molecular do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. com ciclodextrinas, foi realizada utilizando proporções molares, podendo variar de 1:1 a 3:1 em relação ao óleo essencial (substância hóspede) e  $\beta$ -Ciclodextrina (substância hospedeira), sendo relacionada à massa molecular do carvacrol como referência para o óleo essencial. O óleo essencial foi dissolvido em etanol e adicionado a  $\beta$ -Ciclodextrina, em suspensão numa mistura etanol água destilada 1:3(v/v). Após a adição da solução etanólica de óleo essencial na suspensão de  $\beta$ -Ciclodextrina, a mistura foi mantida sob agitação mecânica nos primeiros 30 minutos, e em seguida passou-se para o processo de malaxagem até a evaporação de parte do líquido e formação do pó. O produto sólido

final foi submetido à secagem em estufa sob vácuo, com temperatura de 70°C, por 16 horas, e em seguida, o produto seco foi pulverizada a pó fino e tamisado em tamis com malha de 210 µm.

A caracterização do complexo de inclusão entre o óleo e ciclodextrina foi realizada por calorimetria exploratória diferencial e por espectrofotometria na região do UV-visível. A determinação quantitativa do teor de carvacrol no óleo essencial foi feita por cromatografia gasosa acoplada a espectro de massas (Tabela 1). A quantificação do teor de óleo na composição física sólida foi realizada por espectrofotometria UV-visível, utilizando leitura direta. O método foi usado para quantificar o marcador carvacrol no óleo e nas formas farmacêuticas. O teor de fenóis totais foi determinado utilizando uma reação colorimétrica que ocorre entre o reagente de Folin-Ciocalteu e as hidroxilas fenólicas existente na composição do analito. A intensidade da coloração foi quantificada usando o ácido gálico como substância de referência para fenóis, como mostrado na Tabela 1.

**TABELA 1**

Parâmetros analíticos do óleo essencial de <i>Lippia origanoides</i>	Média ± Dp
Teor de óleo essencial (g/100g)	5,43 ± 0,51
Teor em equivalente de carvacrol (%)	78,14 ± 1,66
Teor de fenóis (%)	31,17 ± 0,43
Fenóis Totais (mg de Equivalente de ácido gálico/g de óleo)	317,23 ± 10,18
Dp – desvio padrão	

O método de quantificação analítica para composição óleo essencial, composição complexo de inclusão e composições farmacêuticas para uso tópico creme e gel-creme, atendeu aos requisitos de validação de métodos analíticos. A espectrofotometria na região do UV-visível mostrou que os espectros de varredura do carvacrol e do óleo essencial apresentavam a absorção no mesmo comprimento de onda (275,5 nm) como mostrado na Figura 2 (Espectro de absorção molecular na região do UV-Vis (800 - 190 nm) do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. e do carvacrol). Assim, o carvacrol foi selecionado como substância marcadora de referência para material vegetal, óleo essencial, complexos de inclusão e formulações farmacêuticas a partir de espécie vegetal *Lippia origanoides* H.B.K..

**Exemplo 3: Avaliação da atividade biológica**

A avaliação da atividade biológica das composições do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. foi realizada sobre formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis*. A atividade leishmanicida das composições de óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. foram determinadas através da análise da inibição do crescimento celular das formas parasitárias promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis*. As formas parasitárias amastigotas e promastigotas foram cultivadas em meio Schneider's Drosophila suplementado com soro fetal bovino, na presença ou ausência de diferentes concentrações das composições do óleo essencial (250µg/mL a 15,63µg/mL), dos complexos de inclusão de ciclodextrina com óleo essencial (500µg/mL a 15,63µg/mL) de *Lippia origanoides* H.B.K. e dos constituintes majoritários carvacrol e timol (250µg/mL a 15,63µg/mL).

As avaliações das atividades leishmanicida das composições óleo, complexos de inclusão com ciclodextrinas, timol e carvacrol foram realizadas com base na inibição do crescimento de formas promastigotas durante o período de incubação. A CI<sub>50</sub> (concentração necessária para inibir em 50% o crescimento dos parasitas) em promastigota foi de 29,90 µg/mL para o óleo essencial, 91,27 µg/mL para o complexo de inclusão, 22,63 µg/mL para o carvacrol e 19,46 µg/mL para o timol.

Atividade leishmanicida em formas amastigotas de *Leishmania amazonensis* internalizadas em macrófagos: formas promastigotas infectivas de *Leishmania amazonensis*, obtidas de lesões cutâneas de camundongos Balb/c, foram expostas a uma camada de células de macrófagos e cultivadas em estufa, sob atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e temperatura de 37°C. Os macrófagos infectados com *Leishmania amazonensis* foram cultivados na presença ou ausência de diferentes concentrações das composições do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K., (250 µg/mL a 15,63 µg/mL) diluídas em meio de cultura e submetidas à estufa de cultivo celular, sob atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e temperatura de 37°C. Após o período de incubação as lamínulas foram coradas e avaliadas em microscópio óptico para quantificar o número de macrófagos, número de macrófagos infectados com amastigotas e o número amastigostas internalizadas por macrófagos.

A capacidade de sobreviver e de se multiplicar dentro do macrófago é uma das características de vários agentes infecciosos incluindo *Trypanosoma cruzi* e

*Leishmania*. A fim de sustentar uma infecção crônica, parasitas devem subverter a ativação dos macrófagos e inibir o desenvolvimento da resposta imune do hospedeiro. Novos tratamentos têm tirado proveito dos conhecimentos obtidos a partir dos estudos sobre a interação *Leishmania* - macrófago (ROSA, et al., 2003).

5 Foi observado que o óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. reduziu o número de macrófagos infectados, a multiplicação e a permanência das amastigotas nos macrófagos chegando a 100% de inibição na concentração de 250 µg/mL.

As taxas de sobrevivência das formas amastigotas dentro dos macrófagos após o tratamento com a composição à base de óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K empregando-se diferentes concentrações de ingrediente ativo é mostrado na Tabela 2.

TABELA 2

Concentração de óleo essencial (µg/mL)	Taxa de sobrevivência (%)
62,5	9,6
125	6,5
250	0,0

As composições de óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. apresentaram um potencial de inibição de crescimento sobre as formas amastigotas e promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

O óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. apresentou baixa toxicidade e índice de seletividade próximo de oito, o que significa que a composição foi oito vezes mais tóxica para o parasita do que para a célula hospedeira (célula de mamífero). Quanto maior esta razão, mais seletiva é a droga para o parasita e, consequentemente, menor efeito ela tem sobre a célula hospedeira de mamífero.

**Exemplo 4: Composições em formas farmacêuticas para uso tópico no tratamento da leishmaniose cutânea**

Foram preparadas composições farmacêuticas sob diferentes formas de apresentação, utilizando-se as metodologias tradicionais e incluindo a adição do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. e dos complexos de inclusão de β-ciclodextrina com o óleo essencial em veículo(s), diluente(s), solvente(s) e/ou

excipiente(s) farmacologicamente aceitável (eis).

O uso das composições óleo essencial e dos complexos de inclusões em ciclodextrinas incorporadas, como princípio ativo, em formas farmacêuticas semi-sólidas para uso tópico, com indicação para uso humano e veterinário no tratamento da leishmaniose cutânea, constitui um dos objetivos da presente invenção.

As formulações semi-sólidas de uso tópico incluem concentrações de 0,05 a 10% veiculadas em sistemas emulsionados de bases não-iônico e aniônico, gel-creme e géis.

As formulações veiculadas em sistemas emulsionados creme foram produzidas pelo método de inversão de fases.

As formulações base gel foram veiculadas em sistemas poliméricos hidrofílicos, em especial, polímeros de acrilato, ácidos carboxivinílicos, ácidos poliacrílicos.

A formulação gel-creme pode ser obtida de diferentes proporções, variando de 10 a 90% da base gel, e com proporções complementares de base creme de 90 a 10% sem alterações de estabilidade.

Foi verificado que as formulações, com a composição óleo essencial de *L. origanoides*, dentro dos parâmetros estabelecidos, não apresentaram problemas de instabilidades.

As formulações obtidas à base do óleo essencial e do complexo de inclusão  $\beta$ -ciclodextrina foram testadas in vivo, em modelo animal experimental de leishmaniose cutânea, em camundongos infectados *Leishmania amazonensis*. As formulações foram administradas por via oral e tópica e apresentaram redução da carga parasitária quando comparadas como os controles (formulações placebo e grupo não tratado), como mostrado na Figura 3.

## REIVINDICAÇÕES

1. FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA DERIVADA DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* H.B.K. **caracterizada por** incluir a adição do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. e dos complexos de inclusão de  $\beta$ -ciclodextrina com o  
5 óleo essencial em veículos farmacêuticamente aceitáveis, para uso humano e veterinário, destinados à administração pelas vias oral e tópica, com aplicações no tratamento de infecções microbianas e parasitárias.
2. FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA DERIVADA DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* H.B.K. de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por**  
10 ter aplicação em especial no tratamento da leishmaniose, com indicação para uso humano e veterinário.
3. FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA DERIVADA DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* H.B.K. de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por**  
15 o óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. constituir o ingrediente ativo da formulação.
4. FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA DERIVADA DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* H.B.K. de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por**  
20 incluir a incorporação do óleo essencial em ciclodextrinas em qualquer proporção molar, com aplicações no tratamento de infecções microbianas e parasitárias, em especial as leishmanioses.
5. FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA DERIVADA DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* H.B.K. de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por**  
o óleo essencial ser obtido por meio do método de extração por hidrodestilação, com rendimento de até 10% (v/m)
- 25 6. FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA DERIVADA DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides* H.B.K. de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada por**  
ser veiculada preferencialmente nas formas sólidas e semi-sólidas.

**RESUMO**

**FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA DERIVADA DE ÓLEO ESSENCIAL  
DE *Lippia origanoides* H.B.K.**

5 A presente invenção se refere a formulações farmacêuticas à base do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K., de seus complexos de inclusão de  $\beta$ -ciclodextrina com o óleo essencial em veículo(s), diluente(s), solvente(s) e/ou excipiente(s) farmacêuticamente aceitável (eis), para uso humano e veterinário, destinados a administração pelas vias oral e tópica, com aplicações no tratamento de infecções microbianas e parasitárias, em especial as leishmanioses.

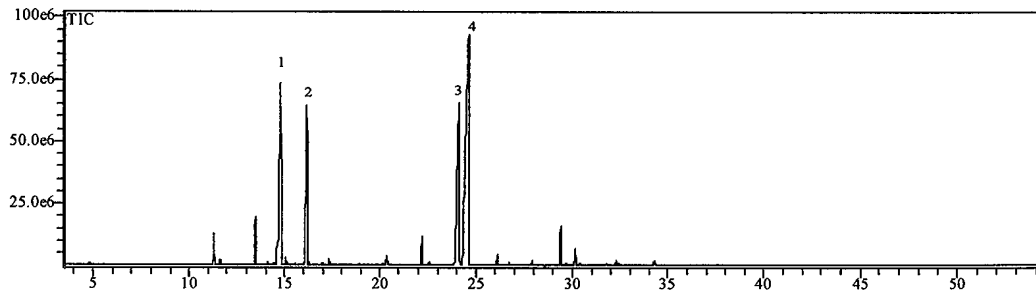
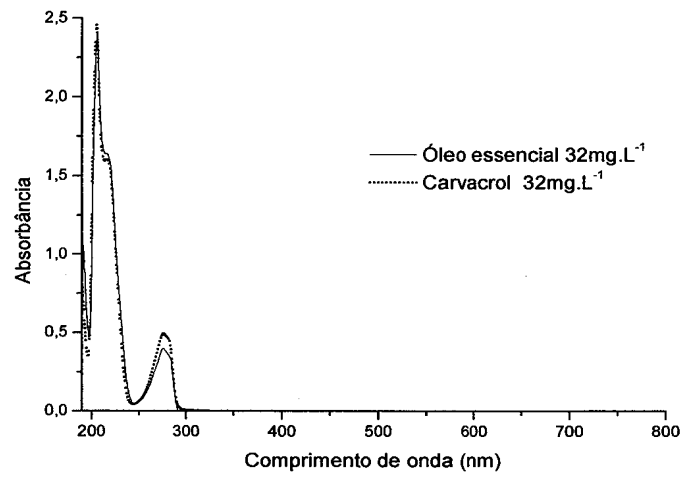
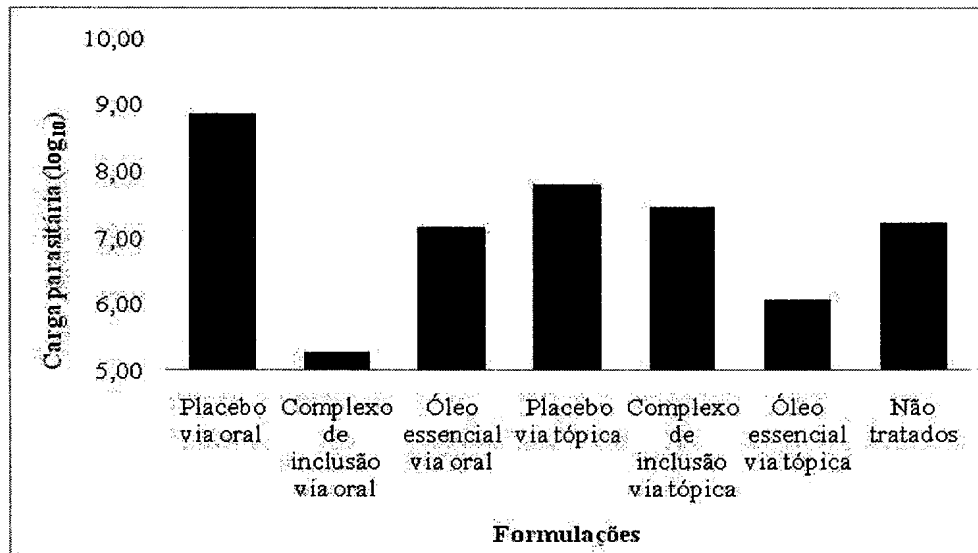


FIGURA 1

**FIGURA 2**

**FIGURA 3**