



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

(11) PI 0814308-0 B1



(22) Data do Depósito: 23/07/2008

(45) Data de Concessão: 27/10/2020

(54) Título: PROCESSO DE PREPARO, COMPLEXO COMPREENDENDO RESVERATROL E CICLODEXTRINA, COMPOSIÇÕES E USO

(51) Int.Cl.: A61K 31/05; A61K 47/40.

(30) Prioridade Unionista: 23/07/2007 BR PI0705319-3.

(73) Titular(es): UNIÃO BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO E ASSISTÊNCIA - MANTENEDORA DA PUC RS.

(72) Inventor(es): ANDRÉ ARIGONY SOUTO.

(86) Pedido PCT: PCT BR2008000216 de 23/07/2008

(87) Publicação PCT: WO 2009/012551 de 29/01/2009

(85) Data do Início da Fase Nacional: 25/01/2010

(57) Resumo: PROCESSO PARA O PREPARO DE UM COMPLEXO SOLÚVEL DE COMPOSTO REVERATROL E CICLODEXTRINA, COMPOSIÇÃO NUTRACÊUTICA, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, E USO DO REFERIDO COMPLEXO A presente invenção fornece produtos contendo resveratrol com alta solubilidade em água e composições nutracêuticas, farmacêuticas e/ou fitoterápicas possuindo essas substâncias. Os processos para obtenção deles incluem o aumento de solubilidade do polifenol correspondente a um composto reveratrol, de preferência o trans-reveratrol em água, pela sua complexação com ciclodextrina em condições específicas que favorecem o equilíbrio termodinâmico. Os produtos da invenção apresentam alta solubilidade e pureza em meio aquoso, sendo, portanto, úteis para preparar composições nutracêuticas (farmacêutica e/ou alimentar), com atividades antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, anti-diabética, cardioprotetora, neuroprotetora, quimiopreventiva, além de proteger o envelhecimento. Também são fornecidas composições fitoterápicas úteis para as mesmas atividades terapêuticas, preparadas a partir do complexo de compostos resveratrol e ciclodextrina, de preferência betaciclodextrina/trans-reveratrol.

Relatório Descritivo de Patente da invenção

PROCESSO DE PREPARO, COMPLEXO COMPREENDENDO RESVERATROL E CICLODEXTRINA, COMPOSIÇÕES E USO

Campo da Invenção

A presente invenção é relacionada a produtos contendo uma forma de resveratrol complexado, aplicado para o preparo de composições nutracêuticas e/ou farmacêuticas, particularmente fitoterápicas compreendendo a referida substância, e a processos para o preparo de um complexo de *trans*-resveratrol e β -ciclodextrina. Os produtos da presente invenção apresentam alta solubilidade em água e, conseqüentemente, alta biodisponibilidade.

Antecedentes da Invenção

Compostos de resveratrol, especialmente o *trans*-resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno) tem atividade antioxidante, antiinflamatória, antiviral, cardioprotetora, neuroprotetora e quimiopreventiva. Além de proteger contra infecções e isquemia, eles reduzem a obesidade e previnem o envelhecimento. O *trans*-resveratrol é um polifenol encontrado principalmente na casca das uvas pretas e no vinho tinto. Quanto mais intensa for a cor do vinho ou das uvas, maior é o seu conteúdo em polifenóis. Estudos parecem indicar que o *trans*-resveratrol pode ajudar a diminuir os níveis de lipoproteínas de baixa densidade, também conhecidas como colesterol LDL ou colesterol "mau", e aumentar os níveis de lipoproteínas de alta densidade, colesterol HDL ou colesterol "bom". O LDL principalmente no seu estado oxidado pode acumular-se nas paredes dos vasos sanguíneos levando à formação de placas de ateroma. Essas placas estão na origem da aterosclerose que resulta na obstrução dos vasos sanguíneos. O *trans*-resveratrol favorece a produção de HDL pelo fígado, a redução da produção de LDL e impede a oxidação do LDL circulante, tendo assim um papel na redução do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, tais como o infarto do miocárdio.

O *trans*-resveratrol é também amplamente conhecido como modulador da expressão e da atividade de uma classe de proteína chamada de sirtuina. Moduladores de sirtuinas realizam “up regulation” (ativando ou estimulando sua expressão), “down regulation” (inibindo ou suprimindo sua expressão) e/ou mudam sua propriedade funcional e/ou sua atividade biológica.

Os moduladores de sirtuina como os compostos de resveratrol, particularmente os derivados de *trans*-resveratrol, atuam para minimizar ou tratar doenças ligadas ao envelhecimento, doenças crônico-degenerativas do sistema circulatório e do neurológico, como enfermidades oculares (WO 2006/127987), psicopatologias (WO 2006/138418), diabetes (WO 2006/104586), câncer (WO 2006/102557) e obesidade (US 2006/111435).

Entretanto, o *trans*-resveratrol possui baixa solubilidade em água, inferior a 0,03 g/L, dificultando sua administração oral (biodisponibilidade) e seu uso como aditivo em bebidas não-alcoólicas. Para contornar essa limitação, sem a síntese de outro derivado, a presente invenção descreve o processo de preparação, sob condições específicas, de um complexo compreendendo resveratrol, preferencialmente o *trans*-resveratrol, e de ciclodextrina, preferencialmente a *beta*-ciclodextrina (β -ciclodextrina), resultando no aumento significativo e surpreendente na sua solubilidade em água.

As ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos, também conhecidos como cicloglucanos ou dextrinas de *Schardinger*, produzidas a partir do amido por ação enzimática. As ciclodextrinas podem ser naturais ou semi-sintéticas. Exemplos de ciclodextrinas naturais são α -ciclodextrina, β -ciclodextrina e γ -ciclodextrina. O uso de ciclodextrinas naturais por seus princípios ativos tem sido considerado restrito devido à sua solubilidade relativamente baixa em água, particularmente quando se trata de β -ciclodextrina (Uekama, K.; Hirayama, F. e Irie, T. "Cyclodextrin Drugs Carrier Systems". Chem. Rev. 98 (5), 2045-2076, 1998). Para contornar essa limitação, derivados semi-sintéticos de β -ciclodextrina, obtidos por metilação ou hidroxi-alkilação dos grupos hidroxila de β -ciclodextrina natural foram obtidos, resultando em ciclodextrinas amorfas que são mais solúveis em água.

A beta-ciclodextrina (β -CD) é uma ciclodextrina cristalina composta por sete unidades de D(+)-glicopiranoses unidas entre si através de ligações α -(1-4), sendo a mais utilizada na área de alimentos. Quanto ao seu metabolismo, considera-se que ela é digerível especialmente no intestino grosso, quando é fermentada pela flora bacteriana, fato determinado em experimentos com animais e com humanos. A β -CD não é tóxica ou genotóxica, mesmo quando ingerida em altas concentrações (Diniz, A. C. P. et al. Cienc. Tecnol. Aliment. 2005. 25(2), 197).

Recentemente, foi relatado que soluções aquosas de *trans*-resveratrol e a β -CD, na proporção de 1:1, apresentam aumento da solubilidade do resveratrol em água, bem como sua biodisponibilidade em sistemas modelo (López-Nicolás J.M, et al *J. Chromatogr. A*, 2006,158; Lucas-Abellán, C. *Food Chem.*, 2007, 39 e Lucas-Abellán, C.; Fortea, I., López Nicolás, J.M. e Núñez-Delicado, E. "Ciclodextrins as resveratrol carrier system". *Food Chemistry*, 104 (2007) 39-99, disponível online em 4 de janeiro de 2007). Entretanto, o referido documento não revela um processo de obtenção do complexo químico β -CD/*trans*-resveratrol (β -CD/Res), nem tampouco sua obtenção para uso em formulações. Além disso, o documento não especifica o aumento de solubilidade alegada, mas menciona a grande influência das condições de complexação nas propriedades do complexo β -ciclodextrina/resveratrol.

Bertacche et al. (Bertacche, V., Lorenzi, N., Nava, D., Pini, E. e Sinico, C. "Host-Guest Interaction Study of Resveratrol with Natural and Modified Cyclodextrins". *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, vol. 55 (3-4). August 2006, 279-287) revelaram o uso de ciclodextrina para formar complexo ciclodextrina/resveratrol, mencionando ciclodextrinas naturais (α , β e γ) ou modificadas (resultantes de qualquer uma destas formas). No entanto, não há qualquer especificação sobre concentrações relativas de qualquer uma das ciclodextrinas em relação ao resveratrol, nem há formação de um complexo cristalino de ciclodextrina-resveratrol com solubilidade surpreendentemente elevada, como o complexo da presente invenção.

Pode-se concluir a partir da literatura científica, que a formação de um complexo com ciclodextrina é equivalente a uma reação, ou seja, diferentes parâmetros ou condições do processo resultam em produtos com características diferentes. Isto pode ser observado, por exemplo, nas várias
5 abordagens diferentes da literatura de patentes, descritas abaixo.

A literatura patentária contempla alguns documentos relacionados a processos de obtenção de *trans*-resveratrol, alguns deles citando o uso de ciclodextrina. Embora nenhum dos documentos encontrados antecipe ou sequer sugira, ainda que indiretamente, o conceito inventivo da presente
10 invenção, são aqui citados alguns documentos utilizados como referências.

Alguns pedidos de patente revelam a utilização de ciclodextrinas e o *trans*-resveratrol como parte de formulações farmacêuticas obtidas através de uma mistura física com outras substâncias, não ocorrendo o isolamento do complexo *trans*-resveratrol/ciclodextrina (β -CD/Res).

O documento internacional WO 2007/009997, depositado por Actimex S.r.l. (Itália) e intitulado “Composition Containing Micronutrients with Improved Anti-oxidant Activity and Use Thereof”, revela composições em pó fino contendo misturas ternárias. A referida composição ternária inclui um ativo, um
15 carreador e um agente auxiliar de moagem, uma vez que o processo de obtenção inclui moagem por pelo menos 90 minutos. Embora no referido documento seja citado o resveratrol como um dos ativos e a ciclodextrina como um dos possíveis carreadores, não é revelada a obtenção de um complexo químico β -CD/Res com alta solubilidade em água.
20

O documento norte-americano US 2006/111318, depositado por
25 Advanced Medicine Research Institute e intitulado “Agent for treating eye diseases”, revela um agente para o tratamento de doenças oculares compreendendo hormônio sexual esteróide e um modulador de sirtuina (que pode ser o resveratrol). No referido documento, o processo de preparação do colírio terapêutico inclui a dissolução de resveratrol em água, formando uma
30 suspensão, e a adição de γ -ciclodextrina e 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina. O aumento da solubilidade por complexação com esta mistura de ciclodextrinas é

atribuído ao uso de ciclodextrinas amorfas, em vez de ciclodextrinas cristalinas, como a β -ciclodextrina.

O documento JP 2000/344622, depositado por Sunstar Inc. e intitulado “Stabilization of Stilbenic Compound and Plant Extract Containing the same, and Food, Medicine, Cosmetic or Oral Cavity Preparation Stably Compounded with Stilbenic Compound and Plant Extract Containing the same”, revela a combinação de compostos estilbênicos com ciclodextrina, como forma de aumentar a estabilidade e eficiência de absorção dos compostos estilbênicos. Embora o resveratrol seja um dos possíveis compostos estilbênicos no referido documento, não é revelada a obtenção de um complexo químico cristalino de composto resveratrol com ciclodextrina com alta solubilidade em água.

Outros documentos revelam a obtenção de complexos de ciclodextrina com outras moléculas diferentes do *trans*-resveratrol, que em tais documentos figuram apenas como parte da formulação. Por exemplo, o documento WO 2003/077860 revela o complexo de ciclodextrina com ácido 3- β -acetil-11-ceto- β -Boswellico; o WO 2004/087121, fornece a obtenção do complexo ciclodextrina com glicosídeos digitálicos; e o WO 2006/083458 relata o preparo do complexo ciclodextrina com diindolilmetano.

A complexação de compostos pouco solúveis por ciclodextrinas, na qual as moléculas de tais compostos são “hóspedes” na cavidade da molécula de ciclodextrina, é realizada em meio sólido, bem como meio líquido ou mesmo em meio semi-sólido. Tais métodos têm vantagens e desvantagens que dependem de vários fatores e que podem ser citados como os mais importantes o obstáculo estérico, a estabilidade de tais compostos, a presença de componentes que não reagiram e a cristalinidade da ciclodextrina escolhida.

Um exemplo representativo das dificuldades a serem superadas no processo de complexação é a obtenção de complexos de inclusão de piroxicam-ciclodextrina (sendo o piroxicam uma substância praticamente insolúvel). Os métodos conhecidos do estado da técnica incluem reações que podem ocorrer em meio sólido, bem como meio líquido, ou ainda em meio semi-sólido.

No que diz respeito à complexação do piroxicam em meio líquido: (1) no documento EP 153998, a complexação do piroxicam com uma ciclodextrina selecionada do grupo de α , β , e γ -ciclodextrina é descrito. A reação pode ser realizada por: (a) dissolução direta do piroxicam em uma solução aquosa de ciclodextrina selecionados e separação do complexo por cristalização; (b) dissolução do piroxicam em um solvente orgânico e a mistura da solução orgânica resultante, sob agitação, com uma solução aquosa de ciclodextrina selecionadas e separação do complexo por cristalização; (c) dissolução do piroxicam e compostos ciclodextrina, sob agitação em uma solução de água-amônia e separação do complexo por secagem, e (d) dissolução do piroxicam e compostos ciclodextrina, sob agitação, em uma solução de água-amônia quente e separação do complexo por liofilização ou atomização em fluxo de ar; (2) no documento WO 03105906, um processo de complexação é descrito: piroxicam e β -ciclodextrina são diluídos em água na presença de hidróxido de amônio sob uma temperatura de 60 °C, sendo a solução, em seguida, resfriada a cerca de -10 °C e, depois, baixando a temperatura da solução congelada a pelo menos -20 °C, de preferência de -30 °C a -40 °C e, finalmente, a solução é seca sob vácuo; e (3) no documento WO 06013039, um processo de preparação de composto de inclusão piroxicam: β -ciclodextrina (1:2,5) é descrito, o piroxicam e a β -ciclodextrina são diluídos, em uma proporção molecular de 1:2,5, em água quente e na presença de hidróxido de amônio, a solução resultante é seca por secagem por spray com controle rigoroso das temperaturas de entrada e de saída dos gases de secagem e posterior separação do complexo em um pó. Estes métodos diferentes para a obtenção do mesmo complexo (piroxicam/ β -ciclodextrina) demonstram o quão complicado é a sua preparação e, portanto, inventivos, e visam solucionar, em um primeiro aspecto, problemas relacionados com a ampliação de escala, do laboratório para a indústria, ou seja, aplicação industrial, e para a obtenção de um tipo amorfo de complexo piroxicam/ β -ciclodextrina para melhorar a solubilidade e reduzir os riscos de cristalização do complexo durante o armazenamento.

No que diz respeito à complexação do piroxicam em meio semi-sólido, o documento WO 03053475 apresenta um processo de preparação de complexos de inclusão para um princípio ativo (no exemplo 1, piroxicam) e uma ciclodextrina (α , β , γ -ciclodextrina ou uma ciclodextrina semi-sintética, como o hidroxipropil- β -ciclodextrina) misturando o dito princípio ativo e ciclodextrina, ambos na forma de pó finamente dividido, na presença de pequenas quantidades de água ou álcool, ácido ou soluções de base aquosa. A mistura resultante é tratada em um forno de microondas e o produto resultante é seco sob vácuo em temperatura ambiente ou com aquecimento a uma temperatura abaixo de 50°C. É mencionado que a melhoria técnica para obter complexos ciclodextrina relaciona-se à obtenção de complexos que são mais “molháveis”, que possuem um maior equilíbrio de solubilidade e uma rápida dissolução em meio aquoso, em comparação com o princípio ativo cristalino, resultando em farmacocinéticos mais auspiciosos e, portanto, com melhores resultados terapêuticos.

Finalmente, quanto à complexação do piroxicam em meio sólido, o documento EP 449167 apresenta um processo de preparação do complexo piroxicam-ciclodextrina, onde ambos os compostos, na forma de pó finamente dividido, são misturados em estado sólido e moído sob condições de alta energia em uma câmara de vapor. O produto resultante é seco sob vácuo e peneirado para eliminar quaisquer agregados. É mencionado que o melhoramento visando à obtenção de um complexo piroxicam-ciclodextrina com alta densidade e grande área de superfície, propriedades estas que quando combinadas com um tamanho extremamente fina de partícula, resulta em um produto adequado para composições farmacêuticas de administração oral, retal e tópica.

Um dos métodos sugeridos no estado da técnica para melhorar a estabilidade das moléculas “hóspedes” em complexos ciclodextrina está descrito no documento WO 06137959. O método indicado no referido documento, compreende a mistura de ciclodextrina e um emulsificante, a adição a esta mistura do composto a ser complexado, diluído em um solvente

adequado, para a formação do complexo alvo e, finalmente, a adição da ciclodextrina não-complexada ao complexo de inclusão de ciclodextrina para formar um sistema de estabilização da molécula "hóspede".

Os ensinamentos do documento WO 2005/111224 são úteis para a técnica de complexação de substâncias insolúveis ou ligeiramente solúveis em água com ciclodextrinas. Nos exemplos do referido documento, um processo para a obtenção de uma coenzima Q10 e β -ciclodextrina solúvel em água é descrito. A dissolução da β -ciclodextrina em água é realizada a uma temperatura de 30°C, de preferência entre 55°C e a temperatura de ebulição. A coenzima Q10 é acrescentada no estado sólido ou dissolvida em um solvente apropriado, preferencialmente na forma sólida. A agitação é realizada a temperatura elevada, em seguida à temperatura ambiente durante várias horas. Posteriormente, o complexo é isolado por filtração, decantação, ou evaporação da água. Opcionalmente, o complexo é secado.

O documento US 6,884,885 descreve um processo para preparar um princípio ativo e complexos de ciclodextrinas para aumentar o rendimento dos complexos. O processo compreende a dissolução da ciclodextrina e a molécula "hóspede", em um solvente líquido a uma temperatura variando entre 20°C e 100°C, de preferência entre 60°C e 80°C. A ciclodextrina deve estar em uma concentração de cerca de 15% (p/p) ou superior, e a dita solução deve ter uma relação molecular de ciclodextrina para a dita molécula de cerca de 1:1 a cerca de 10:1. Em seguida, a mistura da solução é realizada para permitir ao complexo se formar como um precipitado. O precipitado (complexo) é separado.

Os ensinamentos dos documentos mencionados acima mostram as dificuldades da complexação de princípios ativos insolúveis ou ligeiramente solúveis em água por ciclodextrinas. Há muitos parâmetros a serem controlados na obtenção de complexos solúveis em água, apresentando grau de pureza adequado para uso farmacêutico ou nutracêutico, rendimento industrial apropriado e estabilidade do complexo durante o armazenamento dos produtos com eles. Deve-se notar que vários documentos do estado da técnica

mencionam o fato de que a presença de matéria-prima não-reagida no complexo final pode causar problemas de estabilidade do produto durante o armazenamento.

Embora as ciclodextrinas possam ser consideradas portadores
5 interessantes de princípios ativos, especialmente para hidrófobos, em
formulações farmacêuticas a seleção da ciclodextrina adequada para um
determinado princípio ativo e a determinação das condições de reação para a
preparação do complexo desejado são fundamentais. A literatura tem algumas
contribuições importantes que nos ajudam nesta tarefa significativa. Por
10 exemplo, as vantagens e características físico-químicas das ciclodextrinas
estão detalhadas no trabalho de Uekama e colaboradores (1998), onde é
mencionado que as ciclodextrinas hidroxialquiladas aumentam a solubilidade
dos complexos formados por substâncias hidrofóbicas, devido à sua
característica amorfa (parte III, item A.1 ("Hydroxyalkylated Cyclodextrins")).
15 Por outro lado, Uekama et al. também mostram que as formas amorfas são
facilmente transformadas em forma cristalina estável durante o manuseio e
armazenagem de medicamentos, sendo importante o controle da cristalização,
da transição polimórfica e a formação de whiskers (cristais flexíveis e fortes),
especialmente em correlação com efeito ciclodextrina na estabilidade física dos
20 princípios ativos no estado sólido. Apesar de Uekama e colaboradores
observarem o desempenho diferenciado de hidroxipropil- β -ciclodextrina, esse
comportamento não é o mesmo para todos os princípios ativos, por exemplo,
quando a β -ciclodextrina é indicada para a produção de pílulas de isossorbida-
5-mononitrato (vasodilatador) para evitar whiskers (parte III, item B.2 ("In the
25 Solid State")).

O documento chinês CN 2005/1566054, depositado por Institute of
Matéria Medica (China) e intitulado "Resveratrol oligo cattail compounds, its
manufacturing process, pharmaceutical combination and uses thereof", revela a
obtenção de um complexo de ciclodextrina com a cis- ϵ -viniferina, um composto
30 estilbênico oligomérico de *Veratrum album*.

O documento WO 2004/103265, depositado por Enprani Co. e intitulado “Whitening and Antioxidative Cosmetic Composition Containing Resveratrol and Method for Preparing the Same”, descreve a utilização de ciclodextrina (hidroxipropil- β -ciclodextrina) e polietilenoglicol para estabilizar uma composição cosmética que contém *trans*-resveratrol. Na referida composição é também utilizado um segundo estabilizante, selecionado de ácido alfa-lipóico, extrato de *Phellodendron* ou extrato de fermentado de *Alteromonas*.

O documento CN 2004/1500479, intitulado “Resveratrol, Piceid and its Derivative and its Preparation”, descreve a obtenção de clatratos de hidroxipropil- β -ciclodextrina na proporção de 1:50. O processo de preparação descrito no referido documento inclui a dissolução do resveratrol em um solvente orgânico de 1 a 5 vezes, a dissolução de hidroxipropil-beta-ciclodextrina em água destilada de 5 a 50 vezes, gotejar a solução aquosa na suspensão contendo resveratrol, agitar, filtrar e liofilizar o produto, obtido na forma de clatrato. O produto obtido é destinado ao uso por injeção.

Nos documentos WO 2006/127987 (correspondente US 2006/0292099) e WO 2006/105403, depositado por Sirtris Pharmaceuticals, Inc. e intitulado “Treatment of Eye Disorders with Sirtuin Modulators”, preparações oftálmicas compreendendo complexos de inclusão formados por resveratrol e ciclodextrinas são descritos. É mencionado que, preferencialmente, as ciclodextrinas são modificadas para aumentar a solubilidade do resveratrol e, conseqüentemente, sua biodisponibilidade (páginas 148-150 e 159-162 dos documentos WO 2006/105403 e WO 2006/127987, respectivamente). Em tais documentos, foi sugerido o uso de ciclodextrina amorfa, com uma nova abordagem para obter os complexos e surpreendentes resultados em termos de aumento da solubilidade e sua magnitude. É importante notar que a ênfase é dada ao fato de que o uso de derivados de ciclodextrina na forma amorfa é vantajoso, como a hidroxipropil- β -ciclodextrina, porque ciclodextrinas não-modificadas (α , β e γ -ciclodextrina) tendem a se cristalizar, sendo, portanto, menos solúvel em água do que o amorfo. No entanto, os inconvenientes resultantes da manipulação de substâncias amorfas em técnicas farmacêuticas

não são mencionados, o que pode render algumas formas farmacêuticas não viáveis, como, por exemplo, formas farmacêuticas sólidas tais como comprimidos. Este é definitivamente um fator limitante na preparação de composições farmacêuticas, tal limitação é contornada quando composições farmacêuticas são preparadas com complexo cristalino de resveratrol e formas de composto de ciclodextrina - que é uma das características técnicas da invenção.

Portanto, nenhum documento encontrado no estado da técnica anterior mostrou um relatório concreto ou mesmo sugestão de que o complexo cristalino CD/Res forneceria um aumento substancial na solubilidade do resveratrol e, conseqüentemente, na biodisponibilidade aumentada do resveratrol e, ao mesmo tempo, mantendo a estabilidade dos complexos obtidos durante o manuseio como produto final e seu armazenamento. O aumento substancial de solubilidade do complexo da presente invenção, em comparação com a solubilidade de outros complexos de resveratrol e ciclodextrina conhecidos no estado da técnica, é surpreendente e contorna várias limitações técnicas dos métodos atualmente descritos.

Sumário da Invenção

Em um primeiro aspecto, é objeto da invenção um processo otimizado para o preparo e para a obtenção de um complexo solúvel de *trans*-resveratrol e/ou seus derivados em meio aquoso é fornecido, aumentando sua biodisponibilidade e/ou estabilidade. O processo da invenção compreende as seguintes etapas:

(a) homogeneizar a β -ciclodextrina em água, em uma concentração equivalente ao limite de saturação, menor que ou igual a 60 mM, preferencialmente de 20 a 60 mM, mais preferencialmente de 40 a 50 mM, com aquecimento de 50 a 80°C até completar a sua dissolução;

(b) adicionar, à solução resultante da etapa (a), um solvente orgânico fisiologicamente aceitável e miscível em água, em uma proporção solvente orgânico:água na faixa de 1:1 a 1:5, com aquecimento a uma temperatura de

50 a 80°C, por 60 a 180 segundos;

(c) adicionar, à mistura resultante da etapa (b), uma solução de um composto de *trans*-resveratrol diluído em um solvente orgânico fisiologicamente aceitável e miscível em água, em concentração na faixa de 20 a 80 mM, preferencialmente de 40 a 50 mM, aquecendo a mistura resultante a uma temperatura na faixa de 50 a 80°C até completar a sua dissolução;

(d) resfriar lentamente a solução resultante da etapa (c) de forma gradual e lenta a uma temperatura de 10-20°C, preferencialmente de 13-17°C, em repouso, até a precipitação dos cristais sólidos do complexo obtido de *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina; e

(e) separar os cristais sólidos do complexo obtido de *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina, preferencialmente por filtração sob pressão reduzida e submetê-los à secagem.

Em uma realização, o solvente orgânico fisiologicamente aceitável e miscível em água é selecionado do grupo constituído por etanol, acetona, DMSO e/ou ácido acético, preferencialmente o etanol.

Em um segundo aspecto, é objeto da invenção um complexo sólido na forma cristalina de qualidade otimizada de *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina, que apresenta solubilidade em água de 2960,5 $\pm$ 53 a 3010 $\pm$ 62 mg/L, ou seja, em torno de 100 vezes maior do que a solubilidade do composto resveratrol não-complexado, em quantidades apreciáveis, com pureza de até 98%, preferencialmente de 91 a 98% e, por estar na forma cristalina, permitindo a sua inclusão direta em composições terapêuticas e nutracêuticas.

Em um terceiro aspecto, é objeto da invenção uma composição nutracêutica e/ou fitoterápica rica em *trans*-resveratrol aquasolúvel, a dita composição compreendendo o referido complexo sólido em forma de cristais de *trans*-resveratrol e β -ciclodextrina e um veículo farmacologicamente aceitável, tais como diluentes, lubrificantes; ligantes; desagregadores; misturas efervescentes; corantes (pigmentos); açúcares; agentes umectantes; e substâncias nutracêuticamente inativas e não-tóxicas.

Em um quarto aspecto, é objeto da invenção uma composição

farmacêutica rica em *trans*-resveratrol e aquasolúvel, a dita composição compreendendo o referido complexo sólido em forma de cristais de *trans*-resveratrol e β -ciclodextrina e um veículo farmaceuticamente aceitável.

Em uma realização preferencial, quando o complexo obtido pelo processo da invenção é incluído nas referidas composições farmacêuticas e/ou nutracêuticas, fornece atividades antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, anti-diabéticas, cardioprotetoras, ação neuroprotetoras e quimiopreventivas, além de proteger contra infecções e isquemia, na redução da obesidade, e prevenção do envelhecimento.

Em um quinto aspecto, é objeto da invenção o uso do referido complexo no preparo de uma composição farmacêutica para o tratamento de doenças cardíacas, neurodegenerativas, infecciosas, isquêmicas, doenças da obesidade e do envelhecimento, por meio de atividade anti-inflamatória, antiviral, cardioprotetora, neuroprotetora e quimiopreventiva.

Em uma realização preferencial, o uso do complexo no preparo de uma composição farmacêutica é para um medicamento, um produto fitoterápico e/ou um alimento funcional ricos em *trans*-resveratrol e aquasolúveis, compreendendo sucos, néctares, isotônicos ou suas misturas.

Estes e outros objetos da presente invenção serão compreendidos e apreciados a partir da descrição detalhada da invenção e suas reivindicações em anexo.

Breve Descrição das Figuras

A Figura 1 apresenta espectros de ultravioleta do *trans*-resveratrol (linha contínua) e do complexo β -CD/Res (linha descontínua) em água.

A Figura 2 demonstra espectros de ultravioleta em diferentes concentrações do complexo β -CD/Res em água.

A Figura 3 apresenta um gráfico das diferentes concentrações do complexo de β -CD/Res em água em $\lambda = 306$ nm.

A Figura 4 apresenta um cromatograma de suco de uva saturado do complexo de β -CD/Res, onde (1) indica o *trans*-resveratrol; e (2) polifenóis do suco.

A Figura 5 apresenta um cromatograma de suco de soja saturado do complexo de β -CD/Res.

A Figura 6 apresenta espectros de FTIR-ATR do *trans*-resveratrol (linha contínua) e do complexo β -CD/Res (linha descontínua).

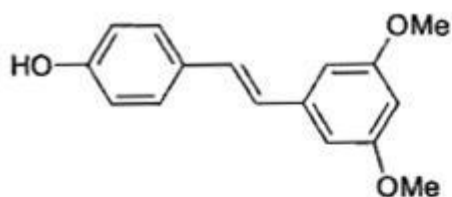
Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção supera várias dificuldades no estado da técnica, ao proporcionar um processo para o aumento substancial da solubilidade de compostos de resveratrol, preferencialmente o *trans*-resveratrol, de forma a tornar prático e viável seu uso. O produto de tal processo é um complexo químico sólido cristalino β -ciclodextrina/*trans*-resveratrol, com elevado grau de pureza, útil como componente ativo em composições farmacêuticas e/ou nutracêuticas, tais como medicamentos, fitoterápicos e/ou em alimentos funcionais.

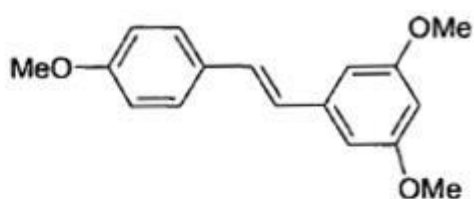
O processo da presente invenção basicamente compreende as seguintes etapas: (a) dissolução da β -ciclodextrina em água, em uma concentração equivalente ao limite de saturação, com aquecimento de 50 a 80°C por tempo suficiente para completar a sua dissolução, (b) adicionar na solução resultante da etapa (a), um solvente orgânico fisiologicamente aceitável e miscível em água, até uma proporção de solvente orgânico:água na faixa de 1:1 a 1:5; (c) adicionar a mistura resultante da etapa (b), uma solução de um composto de *trans*-resveratrol diluído em um solvente orgânico fisiologicamente aceitável e miscível em água, aquecendo a mistura resultante a uma temperatura na faixa de 50 a 80°C por tempo suficiente para completar a sua dissolução, preferencialmente por um período na faixa de 60 a 180 segundos; (d) resfriar lentamente a solução resultante da etapa (c) até a precipitação dos cristais do complexo do composto *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina, preferencialmente a uma temperatura abaixo da ambiente; e (e)

separar os cristais do complexo do composto *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina, preferencialmente por filtração sob pressão reduzida. Preferencialmente, a concentração de β -ciclodextrina na solução da etapa (a) varia de 20 a 60 mM, preferivelmente de 40 a 50 mM. Na etapa (b), preferencialmente a adição do referido solvente orgânico fisiologicamente aceitável e miscível em água é realizada com aquecimento a uma temperatura de 50 a 80°C, por 60 a 180 segundos. A concentração do referido composto *trans*-resveratrol na dita solução varia de 20 a 80 mM, sendo preferível de 40 a 50mM. O resfriamento da solução na etapa (d) é realizado gradualmente e lentamente a uma temperatura de preferência de 10 a 20°C, e preferivelmente a uma temperatura de 13 a 17°C, sendo a dita solução mantida sob repouso nessa temperatura até a precipitação substancial do complexo de composto *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina, quando por fim, passa por um processo de secagem. O referido solvente orgânico fisiologicamente aceitável e miscível em água pode ser qualquer um solvente orgânico em que o referido composto *trans*-resveratrol seja solúvel, e pode ser selecionado a partir do grupo composto por etanol, acetona, DMSO e ácido acético; sendo o etanol o preferencial.

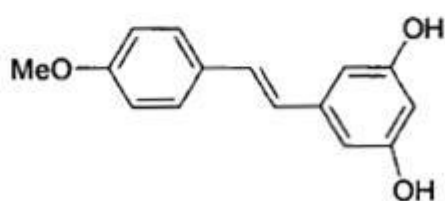
Embora, de acordo com a presente invenção, o uso de *trans*-resveratrol, seja preferencial na preparação do complexo da invenção, os técnicos no assunto também irão identificar que o processo de aumento da solubilidade da invenção pode ser aplicado aos derivados de resveratrol, como seus derivados metilados e/ou acetilados. Derivados metilados podem ser: *trans*-3,5-dimetoxi-4'-hidroxi-estilbeno, *trans*-3,5,4'-trimetoxi-estilbeno e *trans*-3,5-hidroxi-4'-metoxi-estilbeno, descritos abaixo.



trans-3,5-dimetoxi-4'-hidroxi-estilbeno



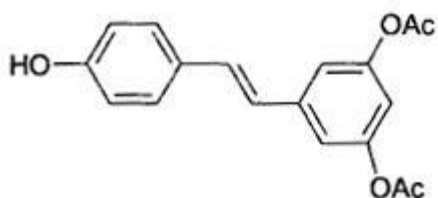
trans-3,5,4'-trimetoxi-estilbeno



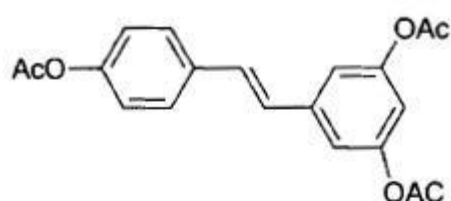
trans-3,5-hidroxi-4'-metoxi-estilbeno

Derivados acetilados podem ser: trans-3,5-diacetil-4'-hidroxi-estilbeno, trans-3,5,4'-triacetil-estilbeno e trans-3,5-hidroxi-4'-acetil-estilbeno, descritos abaixo.

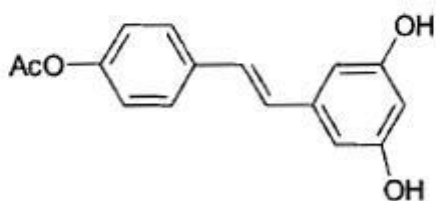
5



trans-3,5-diacetil-4'-hidroxi-estilbeno



trans-3,5,4'-triacetil-estilbeno



trans-3,5-hidróxi-4'-acetil-estilbeno

Da mesma forma, embora de acordo com a presente invenção, a β -ciclodextrina seja a preferida para a complexação de resveratrol e seus derivados, os versados na técnica também identificarão que o processo de aumento de solubilidade da invenção pode ser realizado através da complexação com diversas ciclodextrinas, como as selecionadas do grupo que compreende: α -ciclodextrina (α -CD), β -ciclodextrina (β -CD), γ -ciclodextrina (γ -CD), Hidroxietil- β -CD, Hidroxipropil- β -CD, Sulfobutileter- β -CD, Metil- β -CD, Dimetil- β -CD, β -CD dimetilada randômica, β -CD metilada randômica, Carboximetil- β -CD, Carboximetil etil- β -CD, Dietil- β -CD, Tri-O-metil- β -CD, Tri-O-etil- β -CD, Tri-O-butil- β -CD, Tri-O-valeril- β -CD, Di-O-hexanoil- β -CD, Glucosil- β -CD, Maltosil- β -CD e 2-hidroxi-3-trimetil-amoniopropil- β -CD.

O complexo de compostos *trans*-resveratrol e β -ciclodextrina da invenção obtidos pela complexação da invenção apresenta, surpreendentemente, propriedades melhoradas em comparação com o estado da técnica, tendo como principais características sua alta solubilidade em água, isto é, a solubilidade do dito complexo da invenção é de $2960,5 \pm 53$ a 3010 ± 62 mg/L, ou seja, em torno de 100 vezes maior do que a solubilidade do composto *trans*-resveratrol não-complexado, bem como o seu elevado grau de pureza, variando de 91 a 98%. Outra característica importante do complexo de composto *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina é a sua forma cristalina simultaneamente à sua alta solubilidade em água.

Como foi mostrado, existem várias diferenças entre o processo da presente invenção e aqueles conhecidos pelo estado da técnica representada pelos documentos WO 06/127987, WO 06/105403 e US 6,884,885 e por Bertacche et al, 2006. O processo da presente invenção parte de uma solução de ciclodextrina com concentração próxima da saturação, enquanto que os ensinamentos do estado da técnica utilizam soluções iniciais muito menos concentradas de ciclodextrina, exceto para o processo descrito no documento US 6,884,885. No entanto, neste processo, nem a solubilidade em água, nem a pureza do complexo é mencionada. Além disso, no processo do documento US

6,884,885 a etapa de resfriamento do meio reacional para precipitar o complexo é realizada sob agitação até temperatura ambiente, sem considerar o equilíbrio termodinâmico para evitar que reagentes não-complexado sejam arrastados e, portanto, não considerando a separação do complexo com elevado grau de pureza. Esta diferença é fundamental no processo de complexação da presente invenção, porque quando o composto *trans*-resveratrol é adicionado a uma pequena quantidade de solvente orgânico (por exemplo, o etanol, com a adição sequencial de solvente), o dito composto é forçado termodinamicamente a formar o complexo com β -ciclodextrina. Em outras palavras, a inclusão do *trans*-resveratrol em β -ciclodextrina fica mais eficaz, resultando em uma diferença considerável de solubilidade deste complexo em relação aos processos do estado da técnica. A excelência do processo da presente invenção se torna mais evidente com o uso da β -ciclodextrina, sendo uma ciclodextrina cristalina mencionada no estado da técnica como menos solúvel na formação do complexo do composto *trans*-resveratrol, resultando em um aumento sem precedentes de solubilidade em água do complexo resultante, quando comparada com a solubilidade já conhecida do complexo *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina. Consequentemente, as limitações apontadas nos documentos do estado da técnica, onde o aumento significativo de solubilidade só poderia ser obtido com o uso de ciclodextrinas modificadas, não é o que ocorre no processo da presente invenção. No presente caso, o efeito surpreendente se deve principalmente devido ao uso de uma β -ciclodextrina, considerada como imprópria para o efeito de aumento de solubilidade, apresentando um aumento substancial na ordem de $2960,5 \pm 53$ a 3010 ± 62 mg/L, em torno de 100 vezes maior que o *trans*-resveratrol, nas condições da presente invenção. Resultados substancialmente diferentes em termos deste aspecto são demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1: Comparação entre o processo da presente invenção e o estado da técnica mais próximo.

Características	WO 06/127987 WO 06/105403	US 6,884,885	Bertacche et al, 2006	Presente invenção
Concentração inicial da solução de ciclodextrina	Não relacionado	Pelo menos 15% (p/p)	Não relacionado	No limite da saturação ciclodextrina
Razão de Ciclodextrina e resveratrol	1:0,02	1:1 a 10:1	1:1	Preferencialmente 1:1
Razão de solvente Orgânico (ex.: etanol) e água	1:1	somente água	1:1	1,5:5
Adição sucessiva de solvente	Não	somente água	Não	Sim
Tempo de aquecimento	Não	Não mencionado	90s	360s
Evaporação do Solvente	Sim	Não	Sim	Não
Cristalização	Não	Sim	Não	Sim
Aumento da Solubilidade	20 vezes	Não mencionado	20 vezes	100 vezes
Pureza do Complexo	Não mencionado	Não mencionado	Não mencionado	91-98%

Em outro aspecto da presente invenção, a alta pureza e solubilidade do dito princípio ativo modificado, bem como a sua obtenção a partir de diferentes fontes, fornece vantagem na sua utilização para a formulação de composições farmacêuticas e/ou nutracêuticas da presente invenção. O complexo obtido de *trans*-resveratrol e β -ciclodextrina, quando incluídos nestas composições, proporcionam ação antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, anti-diabéticas, cardioprotetoras, neuroprotetoras, quimiopreventivas, além de proteger contra infecções e isquemia, na redução da obesidade e prevenir o envelhecimento.

Para os efeitos da presente invenção, por “composições farmacêuticas ou nutracêuticas” entende-se toda e qualquer composição com um princípio ativo, com finalidade profilática, paliativa e/ou objetivos curativos, e um veículo/transportador farmaceuticamente aceitável, a dita composição agindo para manter e/ou recuperar a homeostase, através da administração oral,

tópica, parenteral, enteral e/ou intratecal. A expressão “farmaceuticamente/nutraceuticamente aceitável” é aqui utilizada para referir-se a compostos, materiais, composições e/ou doses que estão dentro do campo da medicina/nutrição, adequados para uso em contato com os tecidos humanos e animais sem toxicidade excessiva, irritação, reação alérgica, ou outro problema ou complicação proporcionadas, com um razoável risco-benefício. Os compostos da presente invenção podem ser administrados em dose oral, como comprimidos, cápsulas (cada um inclui formulações de liberação sustentada ou liberação programada), pílulas, pós, grânulos, elixires, tinturas, suspensões, xaropes e emulsões. Eles também podem ser administrados por infusão e injeção intraperitoneal, subcutânea ou intramuscular, todos eles usando doses conhecidas para técnicos no assunto na área farmacêutica/nutracêutica. Eles podem ser administrados isoladamente, mas em geral, são administrados com um veículo farmaceuticamente/nutraceuticamente aceitável, selecionados com base na via de administração escolhida e no padrão da prática farmacêutica/nutracêutica. O regime de dose para os compostos da presente invenção poderá variar, de acordo com características farmacodinâmicas, via de administração, raça, idade, sexo, saúde, condição médica e peso do receptor, natureza e extensão dos sintomas, tipo de tratamento simultâneo, frequência de tratamento, condições de função hepática e renal do paciente/usuário e do efeito almejado. Por exemplo, formas sólidas orais, preferencialmente possuem, além do princípio ativo, um veículo farmaceuticamente/nutraceuticamente aceitável compreendendo um ou mais solventes, tais como, lactose, dextrose, sacarose, celulose, amido de milho ou fécula de batata; um ou mais lubrificantes, como sílica, pó, ácido esteárico, estearato de magnésio ou cálcio, ou de polietileno glicol, um ou mais agentes de ligação (aglutinantes), tais como, amidos, mucilagem, gelatina, metilcelulose, carboximetilcelulose ou polivinilpirrolidona; um ou mais agentes desagregadores, tais como, amido, ácido algínico, alginatos ou glicolato de amido sódico; misturas efervescentes; corantes; agentes açucarados; um ou mais agentes umectantes, como a lecitina,

polissorbato, lauril sulfato e substâncias farmacologicamente/nutraceuticamente inativas e não-tóxicas geralmente utilizadas em formulações farmacêuticas/nutracêuticas e amplamente conhecidas pelos técnicos da área. As composições da presente invenção podem ser fabricadas de maneiras conhecida, por exemplo, por meio de mistura, granulação, prensagem de comprimido, revestimento de açúcar, ou processos de revestimento por filme. Formas nutraceuticas líquidas para administração oral podem ser, por exemplo, xaropes, emulsões ou suspensões. Xaropes podem ter veículos farmacologicamente/nutraceuticamente aceitáveis, tais como, sacarose ou sacarose com glicerina e/ou manita (manitol) e/ou sorbitol. Suspensões e emulsões podem ter veículo farmacologicamente/nutraceuticamente aceitável, como por exemplo, uma goma natural, ágar, alginato de sódio, pectina, metilcelulose, carboximetilcelulose ou álcool polivinílico. As formas destinadas a injeções intramusculares podem ter, além do princípio ativo, veículo farmacologicamente ou nutraceuticamente aceitáveis, tais como, água estéril, azeite, oleato de etila, propilenoglicol e uma quantidade adequada de cloridrato de lidocaína. Na presente invenção, as formas orais são as preferenciais.

Os seguintes exemplos ilustram, mas não limitam, as modalidades preferenciais da presente invenção. Processos aperfeiçoados/melhorados para obter compostos β -ciclodextrina/ *trans*-resveratrol em uma proporção de 1:1 são apresentados. O isolamento do complexo foi realizado por refrigeração, e a solubilidade do *trans*-resveratrol em meio aquoso foi aumentada para 2960,5 $\pm$ 53 a 3010 $\pm$ 62 mg/L, ou seja, em torno de 100 vezes.

Exemplo 1: Obtenção do complexo de β -ciclodextrina (β -CD) e *trans*-resveratrol (Res)

O *trans*-resveratrol utilizado foi obtido pelo processo descrito no documento PI 0806897-6 (Prioridade PI 0700152-5), do mesmo inventor, ou alternativamente, adquirido da empresa Sigma-Aldrich. A β -ciclodextrina (CAVAMAX W& Pharma) foi adquirida da empresa ISP Technologies, Inc.

Em um béquer de 5000 mL foram adicionados 50 g de β -CD (44 mM) e 1000 mL de água destilada. A mistura foi aquecida na temperatura de 60-70°C no forno de microondas por 90 segundos. Logo a seguir foram adicionados 100 a 200 mL de etanol 96% e novamente aquecido por duas vezes na temperatura de 60-70°C no forno de microondas por 90 segundos. A essa solução resultante foram adicionados 10g de *trans*-resveratrol (44 mM) dissolvido em 50 a 100 mL de etanol 96%. A mistura foi aquecida uma ou duas vezes na temperatura de 60-70°C no forno de microondas por 90 segundos. A solução resultante foi resfriada lentamente a 15°C e deixada nessa temperatura por 24 horas. Os cristais formados do complexo β -ciclodextrina/*trans*-resveratrol (β -CD/Res) foram recolhidos por filtração sob pressão reduzida e seco em estufa a vácuo a 60°C, resultando em 14,5-28 g do complexo com pureza de 91 a 98% e rendimento na faixa de 56%. A solução resultante foi liofilizada, pesando de 45,5 a 31,5 g do material sólido possuindo componentes que não reagiram e outros complexos (Figuras 1 e 6).

Exemplo 2: Solubilidade em água do complexo de β -ciclodextrina (β -CD) e *trans*-resveratrol (Res)

Em balões volumétricos de 100 mL foram colocados 10 mg, 100 mg, 500 mg, 1000 mg e 2000 mg do complexo β -CD/Res e adicionada água até completar seu volume. As soluções foram deixadas em ultrassom por 60 minutos. Depois as amostras foram centrifugadas e filtradas em membrana de acetato de celulose de 0,45 μ m. Alíquotas de 20 μ L das amostras foram diluídas 2000 vezes e suas absorbâncias foram medidas no espectrofotômetro de UV-VIS (Figura 2). Observa-se que a saturação do sistema ocorre a partir de 1000 mg de β -CD/Res (Figura 3). A determinação da concentração de *trans*-resveratrol nas amostras de concentrações de 1000 mg e 2000 mg de β -CD/Res foi determinada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Para tal quantificação foi construída uma curva de calibração externa, com concentrações de *trans*-resveratrol variando entre 0,10 a 200,0 mg.L⁻¹. A HPLC foi conduzida com eluição isocrática (fluxo de 1,0 mL min⁻¹), empregando-se

uma solução aquosa de acetonitrila 25%, pH 3,0, ajustado com H₃PO₄. O cromatógrafo foi equipado com detector UV-VIS e coluna C₁₈ de 250 mm de comprimento, 5 µm de diâmetro de partícula e 4,6 mm de diâmetro interno. Alíquotas das amostras foram diluídas 1000 vezes com o eluente e 20 µL foram

5 injetados e detectados em 306 nm. As concentrações de *trans*-resveratrol para a amostra de 1000 mg do complexo β-CD/Res foram de 3010±62 mg.L⁻¹ e para a amostra de 2000 mg do complexo β-CD/Res foram de 2960,5±53 mg.L⁻¹. Também foi determinada a solubilidade do *trans*-resveratrol em água pelo mesmo procedimento descrito acima e o resultado foi de 27,5 ± 0,45 mg.L⁻¹.

10 Todas as análises foram feitas em quintuplicata, ou seja, o aumento da solubilidade do complexo β-CD/Res em relação ao *trans*-resveratrol não complexado foi em torno de 100 vezes.

Tabela 2: Solubilidade relativa das diferentes preparações contendo o *trans*-resveratrol e β-ciclodextrina.

Propriedade	Resveratrol puro	WO 06/127987 (US 06/0292099) WO 06/105403	Bertacche et al , 2006 (artigo)	Presente invenção
Solubilidade	27.5 mg L ⁻¹	550 mg L ⁻¹ (Método equivalente a Bertacche et al)	550 mg L ⁻¹	3010 mg L ⁻¹

15 Como pode ser observado na Tabela 2, o aumento de solubilidade do complexo β-CD/Res da invenção é superior a 400% (5,47 vezes) em comparação com o melhor resultado disponível no estado da técnica e superior a 9000% (100 vezes) em comparação com o *trans*-resveratrol isoladamente.

20 Tais resultados são úteis para diversos usos do resveratrol, principalmente aqueles voltados a presente invenção, uma vez que a baixa solubilidade do *trans*-resveratrol é um problema para a sua preparação/farmácia galênica e para a sua biodisponibilidade.

Exemplo 3: Solubilidade em suco de uva do complexo de β -ciclodextrina (β -CD)/*trans*-resveratrol (Res)

Em 100 mL de suco de uva foram adicionados 1000 mg do complexo β -CD/Res. As soluções permaneceram no Ultrassom por 60 minutos. Depois as amostras foram centrifugadas e filtradas em membrana de acetato de celulose de 0,45 μ m. A concentração de *trans*-resveratrol no suco com β -CD/Res foi determinada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Para tal quantificação foi construída uma curva de calibração externa com concentrações de *trans*-resveratrol variando entre 0,10 a 200,0 mg.L⁻¹. A HPLC foi conduzida com eluição isocrática (fluxo de 1,0 mL min⁻¹), empregando-se uma solução aquosa de acetonitrila 25%, pH 3,0, ajustado com H₃PO₄. O cromatógrafo estava equipado com detector UV-VIS e coluna C₁₈ de 250 mm de comprimento, 5 μ m de diâmetro de partícula e 4,6 mm de diâmetro interno. Uma alíquota de suco contendo β -CD/Res foi diluída 1000 vezes com o eluente e 20 μ L foram injetados e detectados a 306 nm. A concentração encontrada foi de 2650 $\pm$ 51mg.L⁻¹ (Figura 4). Todas as análises foram feitas em quintuplicata.

Exemplo 4: Solubilidade do complexo β -CD/Res em suco de soja

Em 50 mL de suco de soja de diferentes sabores (natural, laranja, uva, pêssago, abacaxi, etc) foram adicionados 1000 mg do complexo β -CD/Res. A suspensão permaneceu em ultrassom por 60 minutos. Em seguida, a amostra foi centrifugada a 10.000 rpm e filtrada em membrana de acetato de celulose de 0,45 μ m. A concentração do *trans*-resveratrol no suco com β -CD/Res foi determinada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Para tal quantificação foi construída uma curva de calibração externa com concentrações de *trans*-resveratrol variando entre 0,10 a 200,0 mg.L⁻¹. A HPLC foi conduzida com eluição isocrática (fluxo de 0,9 mL min⁻¹), empregando-se uma solução aquosa de acetonitrila 25%, pH 3,0, ajustado com H₃PO₄. O cromatógrafo estava equipado com detector UV-VIS e coluna C₁₈ de 250 mm de comprimento, 5 μ m de diâmetro de partícula e 4,6 mm de diâmetro interno. Uma porção de suco contendo β -CD/Res foi diluída 100 vezes com eluente, e 20 μ L foram injetados e detectados a 306 nm. A concentração encontrada foi

de $2380 \pm 71 \text{ mg.L}^{-1}$ (Figura 5). Todas as análises foram realizadas em quintuplicata.

Os versados na técnica valorizarão imediatamente os importantes benefícios decorrentes do uso da presente invenção, como os produtos contendo o complexo *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina com elevado grau solubilidade em água, bem como as composições farmacêuticas, nutracêuticas e/ou fitoterápicas que o contêm.

Variações nas formas de se concretizar o conceito inventivo aqui exemplificado devem ser compreendidas como dentro do espírito da invenção e das reivindicações anexas.

Reivindicações

PROCESSO DE PREPARO, COMPLEXO COMPREENDENDO RESVERATROL E CICLODEXTRINA, COMPOSIÇÕES E USO

- 5 1. Processo para o preparo de um complexo solúvel de compostos *trans*-resveratrol e β -ciclodextrina **caracterizado por** compreender as etapas de:
- 10 a) homogeneizar e dissolver completamente a β -ciclodextrina em água com aquecimento de 50 a 80 °C, até uma concentração menor que ou igual a 60 mM;
- b) adicionar à solução resultante da etapa (a) um solvente orgânico fisiologicamente aceitável e miscível em água, em uma proporção solvente orgânico:água na faixa de 1:1 a 1:5;
- 15 c) adicionar à mistura resultante da etapa (b) uma solução de um composto de *trans*-resveratrol diluído em um solvente orgânico fisiologicamente aceitável e miscível em água, e aquecer a mistura resultante a uma temperatura na faixa de 50 a 80°C até sua dissolução;
- 20 d) resfriar lentamente a solução resultante da etapa (c) até a precipitação dos cristais do complexo obtido de *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina; e
- e) separar os cristais do complexo obtido de *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina com solubilidade de 2960,5 $\pm$ 53 a 3010 $\pm$ 62 mg/L.
- 25 2. Processo de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** dito solvente ser selecionado do grupo constituído por etanol, acetona, DMSO e/ou ácido acético.
3. Processo de acordo com a reivindicação 2, **caracterizado pelo** dito solvente orgânico fisiologicamente aceitável e miscível em água ser o etanol.

4. Processo de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pela** concentração da dita β -ciclodextrina da solução na etapa (a) estar na faixa de 20 a 60 mM.
5. Processo de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado pela** dita concentração da dita β -ciclodextrina estar na faixa de 40 a 50 mM.
6. Processo de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** na etapa (b), preferivelmente, a adição do dito solvente orgânico fisiologicamente aceitável e miscível em água ser realizada com aquecimento a uma temperatura de 50 a 80°C, por 60 a 180 segundos.
7. Processo de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pela** concentração do dito composto *trans*-resveratrol da solução na etapa (c) estar na faixa de 20 a 80 mM.
8. Processo de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado pela** dita concentração do dito composto resveratrol estar na faixa de 40 a 50 mM.
9. Processo de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** resfriamento da solução na etapa (d) ser realizado de forma gradual e lenta a uma temperatura de 10-20°C, a dita solução ser mantida em repouso nesta temperatura para a precipitação dos complexos formados.
10. Processo de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** resfriamento da solução na etapa (d) ser realizado de forma gradual e lenta a uma temperatura de 13-17°C, a dita solução ser mantida em repouso nesta temperatura para a precipitação dos complexos formados.
11. Processo de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pela** separação dos cristais do complexo obtido na etapa (e) de *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina ser realizada por filtração sob pressão reduzida.
12. Processo de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelos** ditos cristais do complexo composto *trans*-resveratrol/ β -ciclodextrina resultante da etapa (e) serem adicionalmente submetidos a secagem.
13. Complexo de *trans*-resveratrol e β -ciclodextrina, obtido pelo processo de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 12, **caracterizado**

por ser um sólido na forma cristalina, apresentar solubilidade em água de 2960,5±53 a 3010±62 mg/L e ter pureza de 91 a 98%.

- 5 14. Composição nutracêutica e/ou fitoterápica, **caracterizada por** compreender como componente ativo e/ou funcional o complexo definido conforme a reivindicação 13 e um veículo nutraceuticamente aceitável, tais como diluentes, lubrificantes; ligantes; desagregadores; misturas efervescentes; corantes (pigmentos); açúcares; agentes umectantes; e substâncias nutraceuticamente inativas e não-tóxicas.
- 10 15. Composição farmacêutica, **caracterizada por** compreender como componente ativo e/ou funcional, o complexo definido conforme a reivindicação 13 e um veículo farmaceuticamente aceitável, tais como diluentes, lubrificantes; ligantes; desagregadores; misturas efervescentes; corantes (pigmentos); açúcares; agentes umectantes; e substâncias farmaceuticamente inativas e não-tóxicas.
- 15 16. Uso do complexo conforme a reivindicação 13, **caracterizado por** ser para preparar uma composição farmacêutica para o tratamento de doenças cardíacas, neurodegenerativas, infecciosas, isquêmicas, doenças da obesidade e do envelhecimento, por meio de atividade anti-inflamatória, antiviral, cardioprotetora, neuroprotetora e quimiopreventiva.
- 20 17. Uso de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado pela** composição farmacêutica ser um medicamento, um produto fitoterápico e/ou um alimento funcional.
- 25 18. Uso de acordo com a reivindicação 17, **caracterizado pelo** alimento funcional ser selecionado do grupo constituído dos sucos, néctares, isotônicos e/ou combinações dos mesmos.

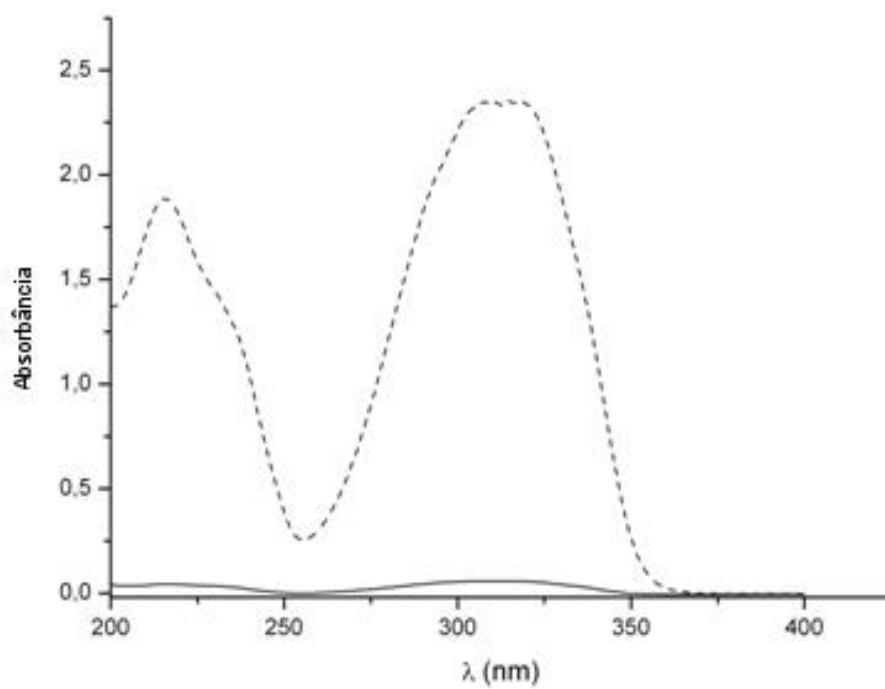
Figuras

Figura 1

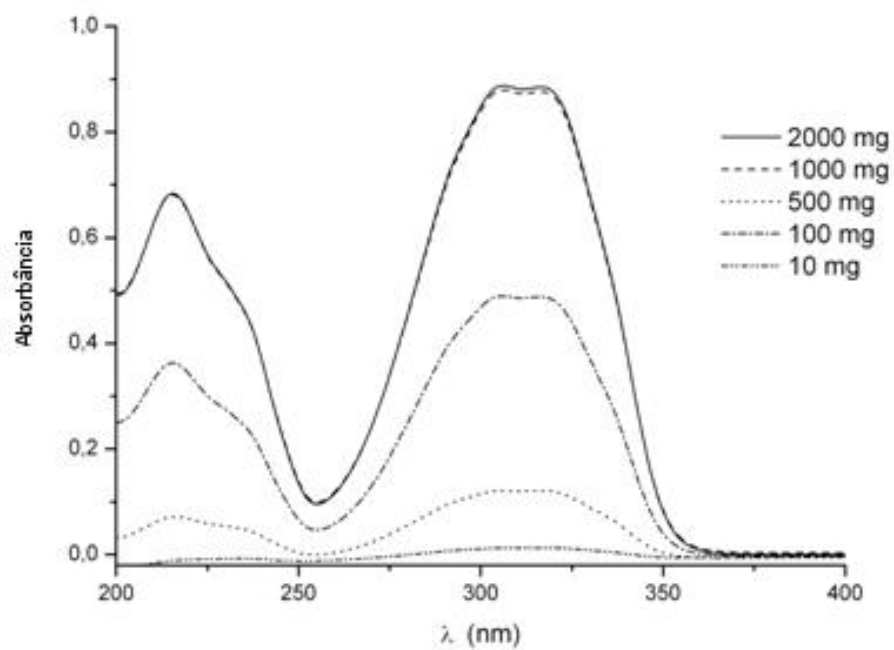


Figura 2

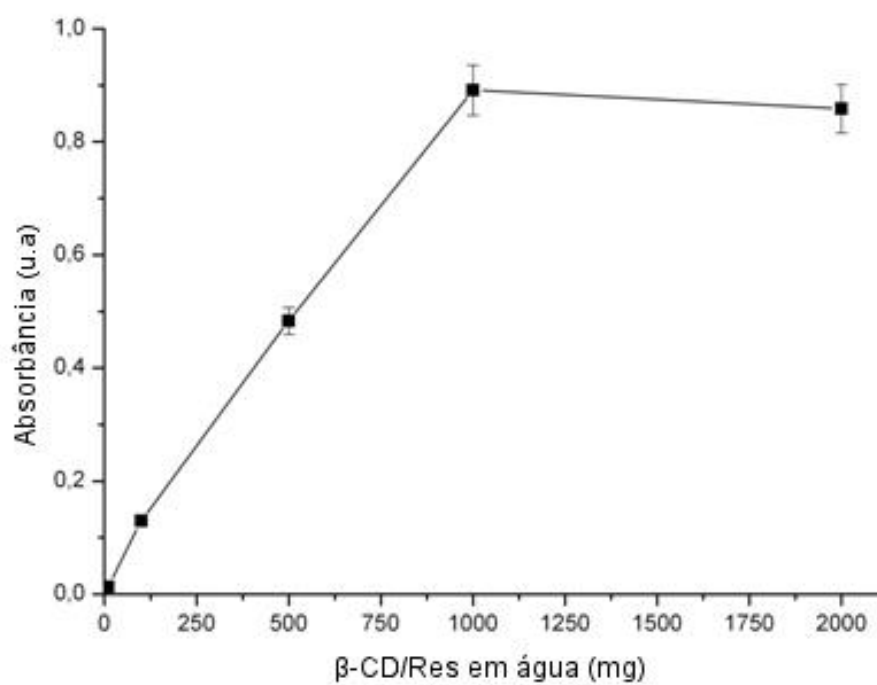


Figura 3

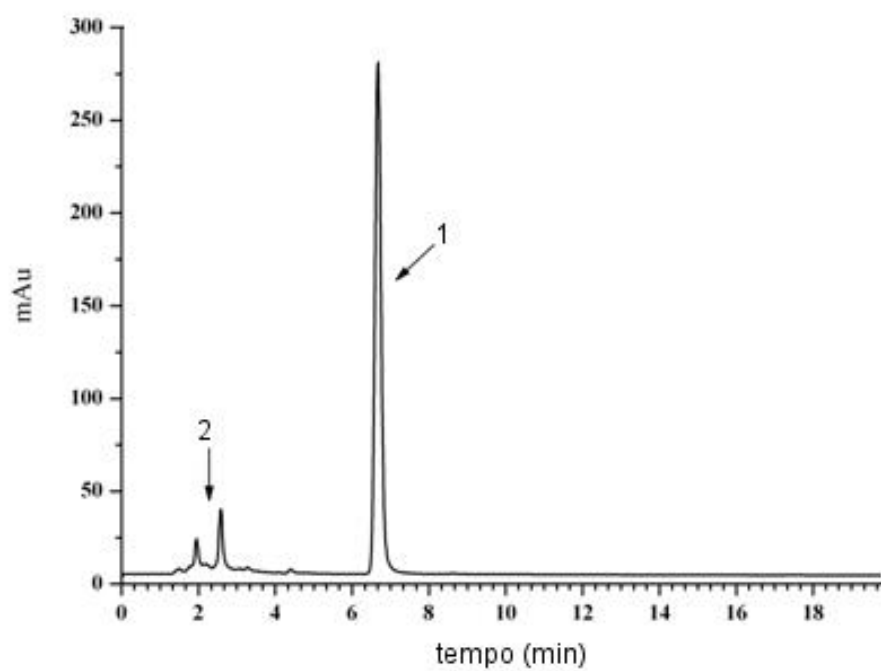


Figura 4

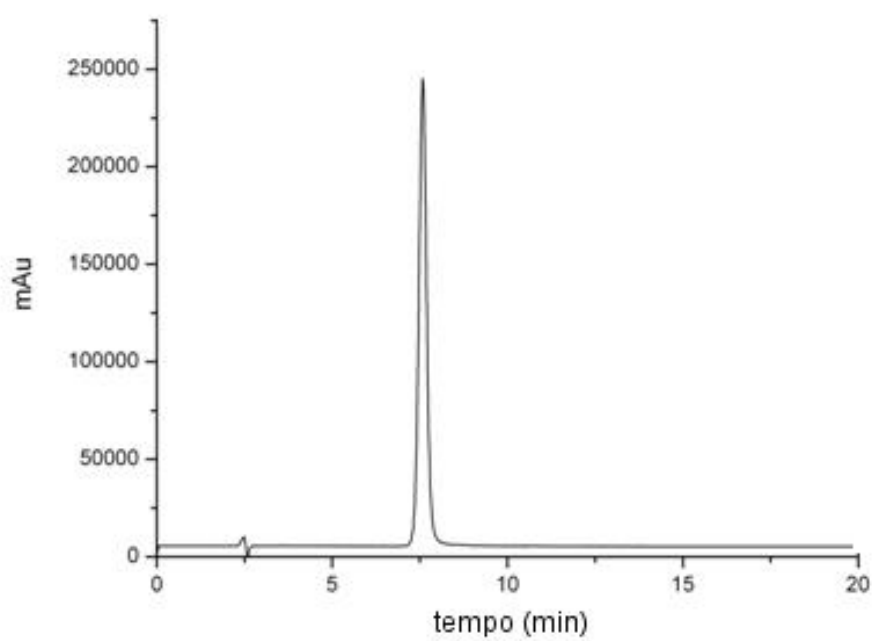


Figura 5

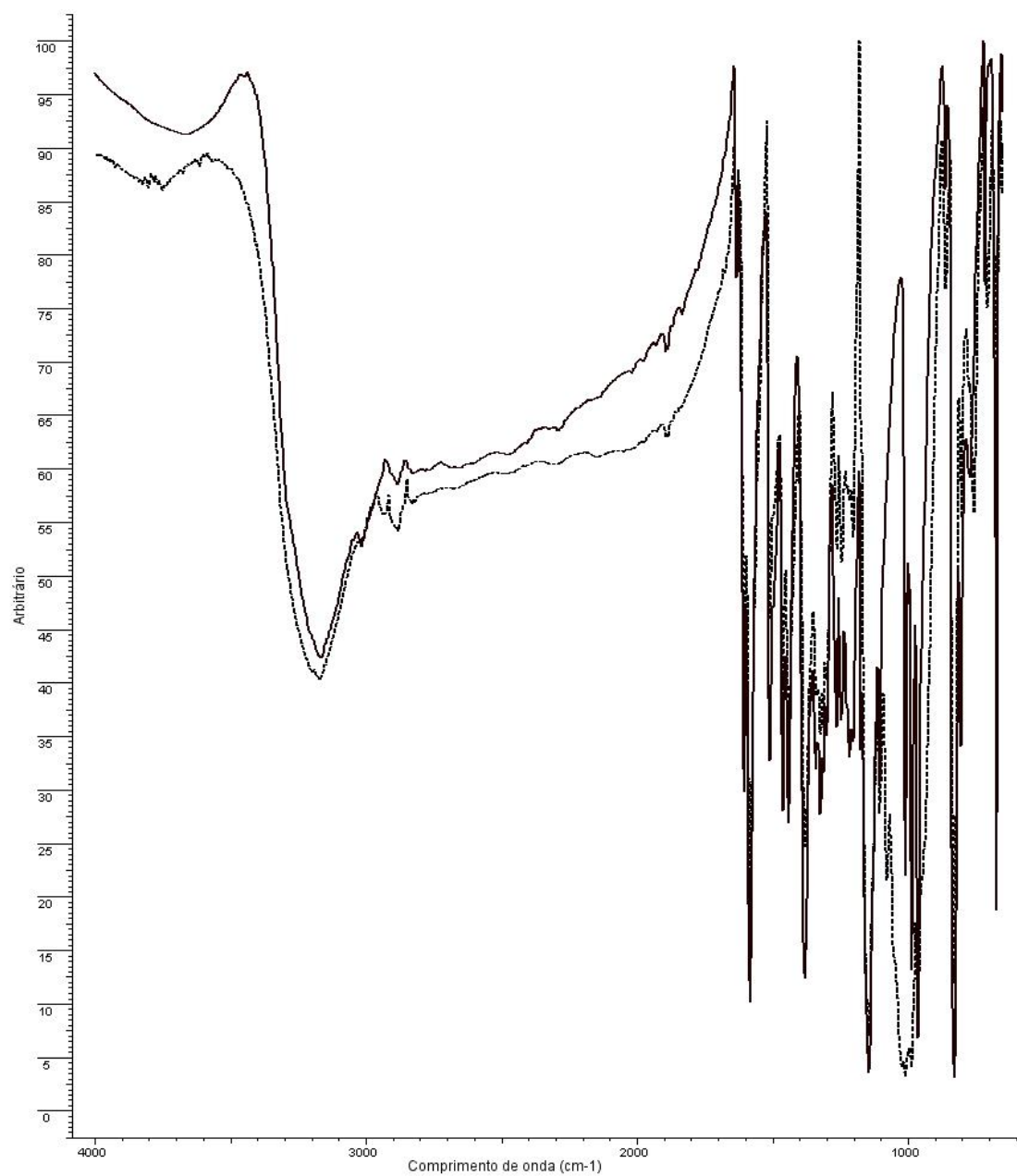


Figura 6