



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

(21) BR 102019025899-3 A2



(22) Data do Depósito: 06/12/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 22/06/2021

(54) **Título:** PRODUTO ANTIMICROBIANO COMPOSTO DE MICROPARTÍCULAS CONTENDO CLOREXIDINA E TIMOL E SEU USO

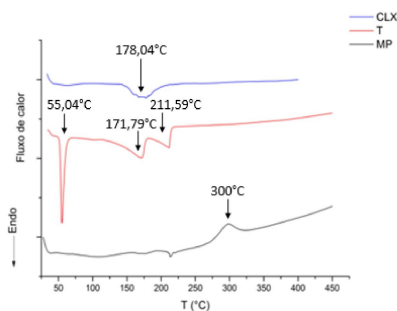
(51) **Int. Cl.:** A01N 47/44; A01N 31/08; A01N 25/28; A01P 1/00.

(52) **CPC:** A01N 47/44; A01N 31/08; A01N 25/28.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA; UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) **Inventor(es):** VANESSA MORAIS MUNIZ; FÁBIO SANTOS DE SOUZA; RUI OLIVEIRA MACÊDO; FÁBIO CORREIA SAMPAIO; MICHELLINE CAVALCANTI TOSCANO DE BRITTO; JOSÉ VENÂNCIO CHAVES JÚNIOR; ALMIR GONÇALVES WANDERLEY; BEATE SAEGERSSER SANTOS; JULIANO RIBEIRO DA SILVA.

(57) **Resumo:** PRODUTO ANTIMICROBIANO COMPOSTO DE MICROPARTÍCULAS CONTENDO CLOREXIDINA E TIMOL E SEU USO A presente invenção refere-se a um produto microparticulado contendo digluconato clorexidina e timol com finalidade farmacêutica ou cosmecêutica podendo ser incorporado em produto farmacêutico sólido ou semissólido, no combate a microrganismos, especialmente em infecções da cavidade oral. As suas vantagens envolvem: sinergismo de ação antimicrobiana, liberação controlada dos ativos, diminuição de chance de resistência dos microrganismos pelo uso de uma menor quantidade dos ativos, diminuição do número de doses e dos efeitos indesejados de ambos os ativos.



**“PRODUTO ANTIMICROBIANO COMPOSTO DE MICROPARTÍCULAS
CONTENDO CLOREXIDINA E TIMOL E SEU USO”**

[001] A presente invenção refere-se a uma micropartícula com o intuito de modular a liberação dos ativos clorexidina e timol através do processo de microencapsulação, tendo potencial utilização na área de farmacêutica e cosmeceuticos, especialmente a atividade microbiológica, com fins curativos e/ou preventivos. Refere-se também ao produto microparticulado em questão adicionado a formas farmacêuticas semissólidas (géis, cremes, pomadas, gomas, pastas, dentre outros) e sólidas (comprimidos, drágeas, cápsulas, adesivos, pós, pós para reconstituição, granulados, transdérmicos e outros relacionados). A micropartícula visa a liberação prolongada das duas substâncias ativas, mantendo por mais tempo a Concentração Inibitória Mínima (CIM) de ambas, diminuindo o intervalo das doses repetidas, aumentando a estabilidade e diminuindo efeitos tóxicos de ambos os fármacos.

[002] A clorexidina é uma substância sintética muito utilizada por sua atividade antisséptica de alto espectro. A mesma é capaz de causar um desequilíbrio osmótico nas bactérias, por ligação dos seus grupos catiônicos a grupos aniônicos presentes na parede celular bacteriana, gerando um aumento da permeabilidade celular e, conseqüentemente, a morte da bactéria. A molécula é uma bisbiguanida (1,1-bis hexametileno (5-p-Clorofenilbiguanida) di-D-Gluconato) e sua estrutura química consiste em uma cadeia de hexametileno hidrofóbico, que se liga a dois grupos catiônicos de clorofenilbiguanida, com fórmula molecular $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$ (peso molecular, 505 g/mol). A substância é encontrada na forma de sal como acetato ou digluconato de clorexidina. O digluconato de clorexidina é efetivo contra bactérias, sejam gram-positivas ou gram-negativas, aeróbias, anaeróbias facultativas e leveduras. É uma substância que combate o aumento do biofilme bacteriano, mais popularmente conhecido

como placa bacteriana, e possíveis alterações na microbiota oral. Por este motivo, é muito utilizada na área de odontologia: em pacientes com dificuldades de higienização (como o caso de usuários de aparelhos ortodônticos), usado após cirurgias bucais ou periodontais, para evitar infecções, visto que é eficaz na supressão ou eliminação, por exemplo, de *Streptococcus mutans*. A clorexidina é uma substância estável, não é tóxica aos tecidos e é pouco absorvida pela pele e mucosas. Apesar de ser bastante utilizada, possui desvantagens como a possibilidade de manchar os dentes, o que acarreta em ponto negativo por causa da estética bucal do paciente, além de poder causar alterações do paladar. Além do sabor desagradável, há casos de descamação da mucosa e reações alérgicas pela sua utilização.

[003] O timol (2-isopropil-5-metilfenol) também é identificado por sua atividade antimicrobiana, é um metabólito secundário volátil, podendo estar presente em várias espécies de plantas. É um monoterpene encontrado nos óleos essenciais de espécies, como *Thymbra spicata*, *Thymus vulgaris*, *Thymus ciliates*, *Monarda fistulosa* (Lamiaceae), *Lippia sidoides* (Verbenaceae), *Nigella sativa* (Ranunculaceae) e *Trachyspermum ammi* (Apiaceae). O padrão sintético do timol é apresentado na forma de um sólido cristalino branco e de cheiro forte. Outras atividades biológicas relatadas são: anti-inflamatória, antimutagênica, analgésica, anticonvulsivante, antiepiléptica, anti-hemolítica, radioprotetora, hipocolesterolêmica, imunossupressora, cicatrizante e antioxidante. Tem forte atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas, gram-negativas e leveduras. É considerado um antimicrobiano de amplo espectro, atuando sobre espécies de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus plantarum*, *Candida spp*, vírus e protozoários. Outro efeito relatado é a inibição de biofilme de *Staphilococcus aureus* e a prevenção contra cáries dentárias. O seu mecanismo compreende na ruptura da membrana citoplasmática dos

microrganismos, que gera um aumento da permeabilidade celular e consequente extravasamento do material celular e a desregulação da sua função. Algumas de suas desvantagens envolvem a baixa solubilidade em água, além de ter sabor e odor muito fortes, que podem ser mascarados através de técnicas de encapsulação.

[004] Os microrganismos vêm se tornando cada vez mais resistentes aos antimicrobianos utilizados, até mesmo infecções menores podem se tornar mortais. Em relação aos biofilmes bacterianos e a grande resistência deles aos antimicrobianos usuais, surgiu uma nova estratégia que é a combinação de moléculas usuais com antimicrobianos já existentes. O objetivo da combinação de antimicrobianos é a potencialização dos efeitos contra os microrganismos e diminuir a chance de resistência.

[005] Dentro deste contexto, a utilização de ferramentas inovadoras pode também ser uma alternativa para melhorar a situação, um exemplo disso são os sistemas de liberação controlada. A adaptação ao perfil de liberação desejado e a possível liberação do fármaco em locais específicos do organismo são vantagens que tornam estes sistemas cada vez mais utilizados. O principal objetivo do mesmo é prolongar o tempo de contato dos fármacos no local de ação ou absorção, devido a liberação lenta ou retardada. Tudo isso pode aumentar a eficiência terapêutica, por meio da redução da dose e da frequência de administração, quando comparado a fármacos tradicionais.

[006] A técnica de microencapsulação corresponde ao revestimento de partículas ou gotículas, permitindo uma liberação do seu conteúdo de forma controlada e/ou localizada, sob condições específicas. Outras funções incluem a separação de materiais reativos, diminuição da toxicidade de algum composto ativo, mascarar odor ou sabor de certas substâncias, reduzir a volatilidade de substâncias lábeis, estender o prazo de validade, controlar a liberação do ativo, fazendo com que ele seja

liberado de forma gradual e/ou com afinidade por um local específico do organismo, protegem a substância incorporada contra agentes que podem diminuir a sua estabilidade (umidade, luz e calor). Diferentes polímeros podem ser utilizados como materiais encapsulantes. Pode-se fazer a mistura de dois ou mais materiais sintéticos ou naturais para melhorar a eficiência de encapsulação. Dos materiais que podem ser utilizados para a preparação da micropartícula estão: amido, celulose, maltodextrina (MD), ciclodextrinas, quitosana, alginato, lipídios (cera, parafina, mono e diglicerídeos), óleos hidrogenados, gorduras, materiais inorgânicos (sulfato de cálcio e silicatos), proteínas (glúten, caseína, gelatina e albumina), polivinilpirrolidona (PVP), a hidroxipropilcelulose (HPC), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), carboximetilcelulose (CMC), entre outros.

[007] Existem diferentes técnicas que auxiliam na preparação da micropartícula, que devem ser avaliadas de acordo com o objetivo da pesquisa, com os materiais que são utilizados, entre outros. Uma delas é a liofilização, uma técnica que pode ser usada para a microencapsulação de materiais. Esta técnica tem como princípio o fenômeno físico da sublimação do solvente sob vácuo, que antes passa por um processo de congelamento. É uma forma eficaz para secar materiais sem prejudicar a estrutura do material. Na liofilização, é necessária uma menor quantidade de solvente, que na maioria das vezes é a água, ainda mais porque o uso de solventes orgânicos traz um grau de toxicidade para os produtos. Outra vantagem da liofilização é a temperatura utilizada no processo, sempre muito baixa. Isto permite que substâncias termolábeis sejam liofilizadas com uma menor degradação, diminuindo a perda durante o processo. O equipamento possui: uma câmara de secagem, aquecedor, bomba de vácuo e condensador. A câmara de secagem é um local fechado hermeticamente e é lá que as amostras são colocadas. A bomba de vácuo fornece as baixas pressões. O condensador impede que a água

que evapora da amostra chegue na bomba de vácuo. No final do processo, tem-se como produto um material com estrutura porosa, que pode ser reconstituído facilmente com a adição de água. Outros processos de secagem também podem ser utilizados, como *spray drying*, mas para o caso, a liofilização apresenta-se mais vantajosa.

[008] O produto microparticulado em questão visa a possibilidade do sinergismo de ação dos princípios ativos, possibilitando o uso de menores doses de ambos e, conseqüentemente, a diminuição dos seus efeitos indesejados. Além disso, a liberação controlada dos ativos também permite um número menor de doses a serem administradas pelo paciente, independente da forma farmacêutica a qual incorporada. Por último, a proteção dos ativos em relação a fatores externos e, em relação ao timol, também diminuindo a possibilidade de volatilização. O produto farmacêutico pode ser incorporado em forma farmacêutica para fins cosmeceuticos ou farmacêuticos, especialmente na área de odontologia, prevenção ou tratamento de doenças, por meio da ação antimicrobiana da clorexidina e do timol.

[009] O desenvolvimento de uma micropartícula contendo clorexidina e timol, em associação, visa uma preparação com um maior potencial de atividade antimicrobiana. O uso de substâncias ativas com diferentes mecanismos, mas de mesma finalidade, traz a possibilidade de sinergismo da ação antimicrobiana. Esta atividade sinérgica, associada à utilização de sistemas de liberação controlada, potencializa ainda mais a ação dos insumos farmacêuticos ativos (IFA). O sistema de liberação se torna possível pela preparação de micropartículas por uma técnica de secagem, no caso a liofilização. Além disso, estas alternativas também possibilitam a diminuição de efeitos indesejados dos ativos. O produto em questão se refere a um pó branco contendo as micropartículas, constituídas dos materiais poliméricos e dos princípios ativos. A sua forma sólida garante uma maior estabilidade em mais tempo. Trata-se, então, de

uma nova alternativa, por exemplo, para profissionais da área de odontologia.

[010] A Figura 1 apresenta combinações possíveis do planejamento fatorial 3^2 , sendo os fatores utilizados em três níveis diferentes para os excipientes LSS e HPMC.

[011] A Figura 2 apresenta os parâmetros cromatográficos utilizados, escolhidos a partir do desenvolvimento do método.

[012] A Figura 3 apresenta os valores CIM baseados na quantidade de ativos da MP.

[013] A Figura 4 apresenta os valores de CBM de *S. aureus* e *S. mutans*, e valores de CFM de *C. albicans*.

[014] A Figura 5 apresenta cromatogramas referentes à seletividade. A etapa em que foram testados os excipientes com o digluconato de clorexidina e o timol. O cromatograma esquerdo apresenta o comprimento de onda de 258 nm (destaque no pico da clorexidina), o direito de 275 nm (destaque no pico do timol).

[015] A Figura 6 apresenta as curvas de DSC da CLX, T e MP. A) curvas DSC de clorexidina, timol e da sua mistura binária. B) curvas de clorexidina, timol e da micropartícula contendo estes dois ativos.

[016] A partir do planejamento fatorial da Figura 1, um gráfico de superfície para cada um dos ativos foi utilizado para avaliar as influências das variáveis em relação à recuperação dos ativos na micropartícula nas diferentes proporções no planejamento fatorial 3^2 . Um plano de superfície de resposta em 3D nas Figuras 5 e 6 permite uma melhor visualização destas influências.

[017] A análise estatística dos dados experimentais mostrou que existe uma grande influência na quantidade de ativos a ser utilizada. Avaliando o gráfico de superfície para a, pode-se perceber que quanto maior a quantidade de LSS e de HPMC, individualmente, maior a quantidade recuperada do ativo na micropartícula. Este efeito é maior

para o LSS do que para o HPMC. À medida que a proporção dos dois aumenta concomitantemente, é possível também ver o aumento da concentração da clorexidina. Os valores de p foram menores do que 0,05% para todos os dados, mostrando a significância dos resultados no nível de 95% de confiança. Para o timol, encontramos o mesmo aumento visto para a clorexidina, em especial a interação primária relacionada ao HPMC.

[018] Este efeito pode ser explicado pela volatilidade do timol, onde quanto mais agente encapsulante, maior interação, resultando em uma maior quantidade de timol envolvido e recuperado da micropartícula. Os valores de p avaliados em relação ao HPMC foram menores do que 0,05% para os dados, mostrando a significância dos resultados no nível de 95% de confiança. Em relação ao LSS, o aumento não foi estatisticamente significativo, com $p \geq 0,05$, na concentração do timol quando houve aumento na proporção deste excipiente. Isso pode ser explicado pelo fato de que a menor proporção de LSS apresentar uma concentração micelar suficiente para solubilizar o timol na proporção na formulação.

[019] As micropartículas foram preparadas a partir de uma emulsificação com os materiais encapsulantes, seguido do processo de liofilização. A preparação da micropartícula se deu da seguinte forma: foi adicionado 5 mL de água destilada a um Erlenmeyer e, sob agitação em agitador magnético, adicionado Lauril Sulfato de Sódio (LSS), a agitação aconteceu por dois minutos; o timol, anteriormente dissolvido em 0,5 mL de etanol, foi adicionado lentamente, em seguida, a clorexidina também foi, a agitação aconteceu por mais cinco minutos; adicionou-se a carboximetilcelulose, que foi previamente diluída em 5 mL de água destilada, a agitação ocorre por mais dois minutos; adicionou-se a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e agitar por mais dois minutos; adicionar a Maltodextrina (MD) aos poucos e deixar agitar pelos últimos

cinco minutos. Com a formação da emulsão, o conteúdo foi transferido para dois recipientes de acrílico com tampa e imediatamente levado a um ultrafreezer a -80°C .

[020] Após o tempo de congelamento, as amostras foram submetidas ao processo de liofilização, na temperatura de $-45\pm 5^{\circ}\text{C}$, pressão < 500 mmHg por um tempo de 13 horas. As amostras foram micronizadas, e posteriormente utilizadas para o teste de doseamento. Todas as amostras foram armazenadas em embalagem impermeável com proteção à luz em dessecador. O método de preparação da amostra para análise do teor dos ativos foi desenvolvido utilizando uma sequência de operações unitárias: extração com 5 mL álcool etílico PA (quantidade correspondente à metade do balão volumétrico de 10 mL), seguido de uma agitação com sonicador durante 10 minutos; em seguida, adicionou-se água destilada grau farmacêutico q.s.p 10 mL. O doseamento foi feito a partir desta solução, preparada igualmente para todas as amostras.

[021] O método de doseamento utilizado foi a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com o cromatógrafo Shimadzu (Série Prominence), injetor automático (SIL-20^a), bomba multissolvente (LC-20AT), sistema de degaseificação (DGU-20^a5), forno para coluna (CTO-20^a) e detector com arranjo de diodos (DAD) (SPDM20A). A coluna utilizada foi uma NST® Octilsilano – C8 120^a (250 mm x 3,9 mm i.d., com 5 µm de tamanho de partícula). O método foi desenvolvido de forma que acontecesse a quantificação das duas substâncias de forma simultânea. Com o detector DAD foi possível monitorar os dois comprimentos de absorção máxima simultaneamente, da clorexidina (258 nm) e do timol (275 nm). A fase móvel foi preparada utilizando reagentes e solventes grau analítico na proporção metanol:NaH₂PO₄ 0,03 mol L⁻¹ (60:40) + 0,4% de trietilamina, com pH 2,7; fase estacionária coluna C8; tempos de retenção da clorexidina e timol, respectivamente foram ± 7 e ± 22 minutos. As substâncias químicas de referência utilizadas foram Digluconato de

Clorexidina e o Timol da Sigma-Aldrich®, Brazil. Outros dados da corrida cromatográfica estão dispostos na Figura 2.

[022] A recuperação dos ativos no interior da micropartícula pode acontecer de 90% até a total recuperação para a clorexidina, para o timol varia entre 40 a 80%, variando de acordo com os excipientes utilizados e também as diferentes proporções. Os cromatogramas do Digluconato de Clorexidina e o Timol nas amostras contendo os componentes da formulação do MP estão dispostos na Figura 5.

[023] O estudo de compatibilidade dos componentes da formulação do MP foi realizado através da Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) a fim de se obter resultados quanto à possibilidade de interação química entre os materiais utilizados. Foi possível observar um perfil amorfo para a clorexidina liofilizada, forma utilizada neste experimento específico, e um perfil cristalino para o timol. Na curva DSC da micropartícula foi evidenciado uma elevada redução da energia nas faixas de temperaturas corresponde aos eventos térmicos característicos da clorexidina e ao timol, indicando que os ativos formaram um complexo de inclusão, como indica a Figura 6. Ainda é possível observar um pequeno evento exotérmico em 300°C, que pode ser referente à degradação da micropartícula.

[024] O teste de microdiluição foi feito com *Streptococcus mutans* (INCSQS 00446), *Staphylococcus aureus* (ATCC 15656) e *Candida albicans* (ATCC 76645) e mostrou resultados favoráveis para a Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida ou Fungicida Mínima (CBM e CFM). Os microrganismos utilizados faziam parte do acervo do Laboratório de Biologia Bucal da Universidade Federal da Paraíba, cedidos pelo Instituto Oswaldo Cruz – RJ. O intuito deste teste foi confirmar a recuperação dos fármacos da micropartícula e a atividade deles quando comparado às formas livres. A micropartícula apresentou CIM de 4,8 + 7,5; 4,2 + 6,56 e 4,2 + 6,56 µg mL⁻¹ (clorexidina

e timol, respectivamente) para *S. mutans*, *S. aureus* e *C. albicans*, respectivamente. Os resultados de CBM foram de $6,0 + 9,38 \mu\text{g mL}^{-1}$ (clorexidina e timol, respectivamente) para as duas bactérias e CFM de $4,2 + 6,56 \mu\text{g mL}^{-1}$ (clorexidina e timol, respectivamente) para *C. albicans*. Os valores foram considerados promissores frente a estes três microrganismos, também em comparação com os valores encontrados na literatura. Os valores estão dispostos nas Figuras 3 e 4.

[025] Micropartícula antimicrobiana que tem por princípios ativos clorexidina e timol compreende, como material de parede: quitosana, ciclodextrinas, hidroxipropilmetilcelulose, maltodextrina, de forma individual ou em associação, preferencialmente a hidroxipropilmetilcelulose e a maltodextrina. Outros excipientes foram utilizados com diferentes finalidades.

[026] De modo preferencial, a micropartícula foi preparada da seguinte forma: **a)** clorexidina entre 0,02 e 0,06 g a partir da solução de digluconato de clorexidina a 20%, preferencialmente 0,048 g; **b)** timol entre 0,05 e 0,1 g, preferencialmente 0,075 g; **c)** hidroxipropilmetilcelulose entre 0,05 e 0,2 g, preferencialmente 0,075 g; **d)** maltodextrina entre 2 e 5 g, preferencialmente 3 g; **e)** laurel sulfato de sódio entre 0,03 e 0,06 g, preferencialmente 0,04g; **f)** carboximetilcelulose entre 0,01 e 0,04 g, preferencialmente 0,02 g.

[027] A escolha da clorexidina veio pela sua ampla utilização, especialmente na área de odontologia, conhecida como o “padrão-ouro” contra os microrganismos que causam infecções orais, já o timol vem sendo cada vez mais estudado, também por poder ser encontrado em plantas, e tem se mostrado um potente antimicrobiano. O uso da clorexidina e do timol em suas formas livres pode acarretar efeitos indesejáveis, o intuito da micropartícula é também tentar diminuir estes fatores, tendo como objetivo o sinergismo de ação dos dois, além da diminuição da dose individual. A micropartícula também permite mascarar

o sabor dos ativos, melhorando a adesão dos pacientes ao tratamento. A utilização deste produto em uma forma farmacêutica para uso em pacientes com problemas bucais, da estética à cárie e também outros acometimentos maiores, deve também ser explorada. O presente produto apresenta-se promissor como um potencial medicamento. A incorporação do produto em forma farmacêutica permite que possa ser utilizado para tratamento e prevenção de eventos ligados a microrganismos, seja na forma semissólida (géis, cremes, pomadas, gomas, pastas, dentre outros) e na forma sólida (comprimidos, drágeas, cápsulas, adesivos, pós, pós para reconstituição, granulados, adesivos e outros relacionados).

REIVINDICAÇÕES

1. “Produto antimicrobiano composto de micropartículas contendo clorexidina e timol e seu uso” caracterizado pelo preparo das micropartículas obedecer, preferencialmente, as seguintes etapas: **a)** clorexidina entre 0,02 e 0,06 g a partir da solução de digluconato de clorexidina a 20%, preferencialmente 0,048 g; **b)** timol entre 0,05 e 0,1 g, preferencialmente 0,075 g; **c)** hidroxipropilmetilcelulose entre 0,05 e 0,2 g, preferencialmente 0,075 g; **d)** maltodextrina entre 2 e 5 g, preferencialmente 3 g; **e)** laurel sulfato de sódio entre 0,03 e 0,06 g, preferencialmente 0,04g; **f)** carboximetilcelulose entre 0,01 e 0,04 g, preferencialmente 0,02 g.

2. “Produto antimicrobiano composto de micropartículas contendo clorexidina e timol e seu uso”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo produto microparticulado deter atividade antimicrobiana frente a bactérias e fungos com CIM de $4,8 + 7,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *S. mutans*; $4,2 + 6,56 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *S. aureus* e $4,2 + 6,56 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. albicans*; sendo os resultados de CBM de $6,0 + 9,38 \mu\text{g mL}^{-1}$ para os dois primeiros tipos de bactérias e CFM de $4,2 + 6,56 \mu\text{g mL}^{-1}$ para *C. albicans*; onde o valor 1 correspondente a clorexidina + o valor 2 correspondendo ao timol em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

3. “Produto antimicrobiano composto de micropartículas contendo clorexidina e timol e seu uso”, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo produto microparticulado prolongar o tempo de liberação e potencializar a atividade antimicrobiana.

4. “Produto antimicrobiano composto de micropartículas contendo clorexidina e timol e seu uso”, de acordo com a reivindicação

1, **caracterizado pelo** produto microparticulado utilizar como agentes encapsulantes para os ativos empregados: quitosana, ciclodextrinas, hidroxipropilmetilcelulose, maltodextrina, preferencialmente a maltodextrina e a hidroxipropilmetilcelulose.

5. **“Produto antimicrobiano composto de micropartículas contendo clorexidina e timol e seu uso”**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** produto microparticulado ser preparado por meio de uma emulsificação utilizando os agentes encapsulantes e excipientes e passar por processo de secagem, preferencialmente liofilização.

6. **“Produto antimicrobiano composto de micropartículas contendo clorexidina e timol e seu uso”**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** produto microparticulado permitir uma recuperação na faixa de 1,45 mg (CLX/100 mg) a 1,77 mg (CLX/100 mg) correspondente entre 90 e 110% de Digluconato de clorexidina em relação ao agente encapsulante principal e de 1,00 mg (Timol/100 mg) a 2,00 mg (Timol/100 mg) correspondente entre 40 e 80% de Timol em relação ao agente encapsulante principal.

7. **“Produto antimicrobiano composto de micropartículas contendo clorexidina e timol e seu uso”**, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 5, **caracterizado pelo** produto microparticulado ser um intermediário para formulações de formas farmacêuticas e cosmecêuticas semissólidas (géis, cremes, pomadas, gomas, pastas dentre outros) ou sólidas (comprimidos, drágeas, cápsulas, adesivos, pós, pós para reconstituição, granulados, transdérmicos e outros relacionados).

<i>Experimentos</i>	<i>LSS</i>	<i>HPMC</i>
1	-1	-1
2	0	-1
3	+1	-1
4	-1	0
5	0	0
6	+1	0
7	-1	+1
8	0	+1
9	+1	+1

Figura 1

<i>Parâmetros cromatográficos do método analítico</i>	
Parâmetros	Especificações
Equipamento	CLAE
Detector	DAD
Fase estacionária	Coluna C8
Elução	Isocrática
Fase móvel	MeOH: NaH ₂ PO ₄ 0,03 mol L ⁻¹ + 0,4% de trietilamina
Proporção da fase móvel	60:40
Fluxo da corrida	0,8 mL min ⁻¹
Tempo de retenção da CLX	±7 minutos
Tempo de retenção do timol	±22 minutos
Tempo total de corrida	25 minutos
Comprimento de onda da CLX	258 nm
Comprimento de onda do timol	275 nm
pH da fase móvel	2,7
Temperatura do forno da coluna	40°C

Figura 2

MIC ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			
Teste de MP contendo 0,012% CLX 0,018% TIMOL	Microrganismos		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>C. albicans</i>
Número do poço (em triplicata)	B, E, H 3	B, E, H 4	B, E, H 4
Clorexidina + Timol	4,8 + 7,5	4,2 + 6,56	4,2 + 6,56

Figura 3

CBM e CFM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			
Teste de MP contendo 0,012% CLX 0,018% TIMOL	Microrganismos		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>C. albicans</i>
Poços da CBM e CFM	H1	H1	H4
Clorexidina + Timol	6,0 + 9,38	6,0 + 9,38	4,2 + 6,56

Figura 4

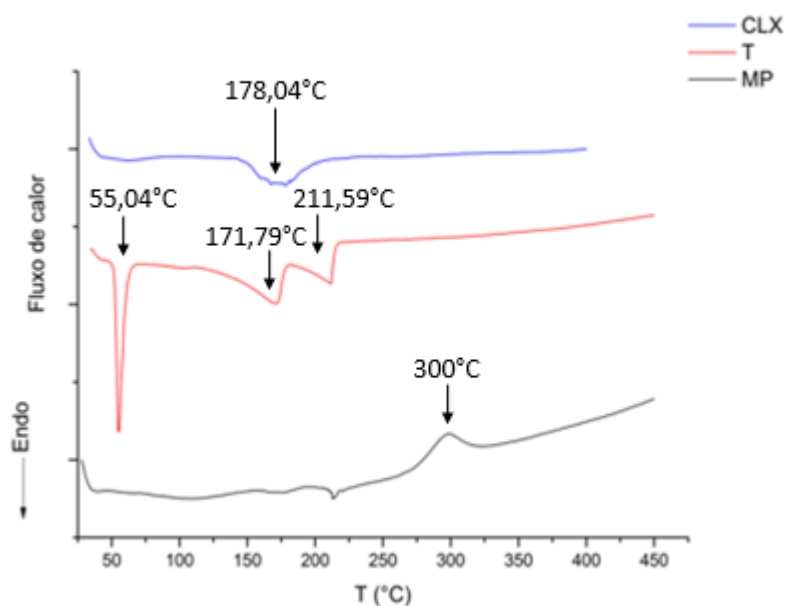


Figura 5

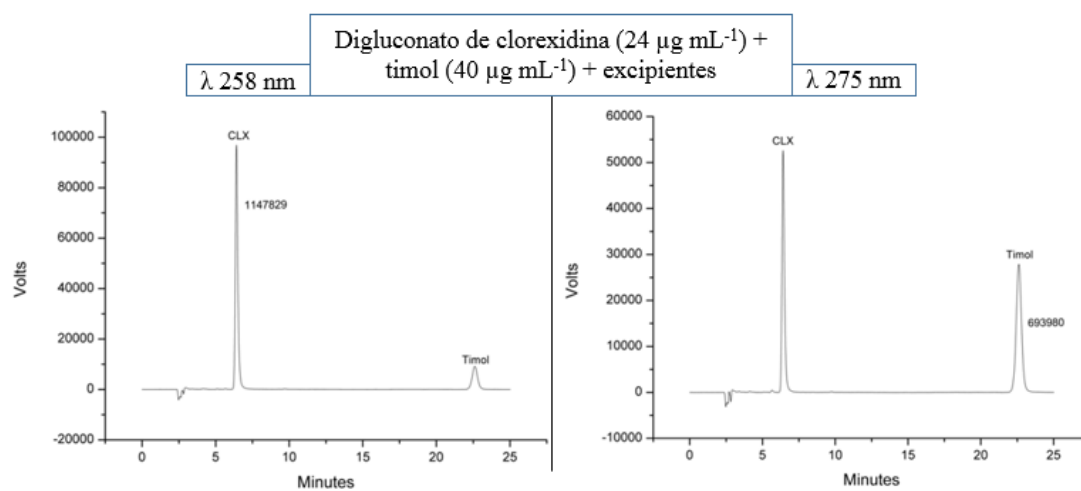


Figura 6

RESUMO**“PRODUTO ANTIMICROBIANO COMPOSTO DE MICROPARTÍCULAS
CONTENDO CLOREXIDINA E TIMOL E SEU USO”**

A presente invenção refere-se a um produto microparticulado contendo digluconato clorexidina e timol com finalidade farmacêutica ou cosmecêutica podendo ser incorporado em produto farmacêutico sólido ou semissólido, no combate a microrganismos, especialmente em infecções da cavidade oral. As suas vantagens envolvem: sinergismo de ação antimicrobiana, liberação controlada dos ativos, diminuição de chance de resistência dos microrganismos pelo uso de uma menor quantidade dos ativos, diminuição do número de doses e dos efeitos indesejados de ambos os ativos.