



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial



(21) BR 102022003827-9 A2

(22) Data do Depósito: 28/02/2022

(43) Data da Publicação Nacional:
05/09/2023

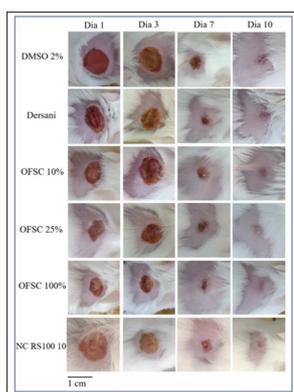
(54) **Título:** COMPOSIÇÃO À BASE DO ÓLEO DE LICURI (SYAGRUS CORONATA) PARA O TRATAMENTO DE FERIDAS

(51) **Int. Cl.:** A61K 36/889; A61K 131/00; A61P 17/02.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO; COOPERATIVA DE PRODUÇÃO DA REGIÃO DO PIEMONTE DA DIAMANTINA COOPES.

(72) **Inventor(es):** PAULO HENRIQUE OLIVEIRA DE MIRANDA; SIMEONE JÚLIO DOS SANTOS CASTELO BRANCO; VITOR LOPES CHAGAS; RICARDO SÉRGIO DA SILVA; WESLLEY FELIX DE OLIVEIRA; KÁTIA ALVES RIBEIRO; PALOMA MARIA DA SILVA; JOÃO VICTOR DE OLIVEIRA ALVES; LUÍS CLÁUDIO NASCIMENTO DA SILVA; BRUNO OLIVEIRA DE VERAS; MARIA TEREZA DOS SANTOS CORREIA; MARCIA VANUSA DA SILVA.

(57) **Resumo:** COMPOSIÇÃO À BASE DO ÓLEO DE LICURI (Syagrus coronata) PARA O TRATAMENTO DE FERIDAS. A presente invenção é referente ao processo de formulação de uma nanocápsula contendo o óleo de Syagrus coronata, para uso tópico no tratamento de feridas cutâneas. Para obtenção das nanocápsulas poliméricas foi utilizado uma metodologia de deposição interfacial de polímero pré-formado com uma fase orgânica de acetona e o óleo de S. coronata, obtido comercialmente contendo oitos diferentes ácidos graxos em sua composição. Ao final do processo de formulação, foram obtidas nanocápsulas com diâmetro médio de ca. 130 nm. Tanto o óleo de S. coronata, quanto as nanocápsulas foram testadas quanto ao potencial cicatrizante, ambos foram capazes de induzir uma aceleração da cicatrização de feridas induzindo o fechamento total da área da ferida no décimo dia após o início do tratamento.



COMPOSIÇÃO À BASE DO ÓLEO DE LICURI (*Syagrus coronata*) PARA O TRATAMENTO DE FERIDAS

Campo da Invenção

001. O presente invento consiste no desenvolvimento de nanocápsulas poliméricas contendo como princípio ativo o óleo fixo extraído do licuri (*Syagrus coronata*) visando aplicação tópica para a aceleração da cicatrização de feridas cutâneas.

Antecedentes da Invenção

002. A cicatrização de feridas é um processo dinâmico e complexo uma vez que envolve três estágios biológicos: (i) inflamação, que geralmente dura até seis dias; (ii) proliferação, que normalmente cobre as duas semanas seguintes; e (iii) remodelação, que continua por até dois anos. Além disso, a fisiologia do processo de cicatrização pode ser perturbada por fatores extrínsecos e intrínsecos, tais como tecido necrótico, contaminação com patógenos e a presença de comorbidades subjacentes (MIHAI et al., 2019).

003. O manejo de feridas tem sido um grande problema que custa bilhões de dólares em todo o mundo e tem ganhado cada vez mais atenção para o desenvolvimento de ações terapêuticas mais efetivas, tais como o desenvolvimento de curativos inteligentes com capacidade biomecânica, responsiva a estímulos, aplicável a feridas em movimento e auto removível (DONG; GUO, 2021). O processo de cicatrização de feridas seguro, preciso e econômico pode ser alcançado através de produtos naturais oriundos de plantas uma vez que seus compostos podem atuar como agentes antioxidantes, antimicrobianos, anti-inflamatórios e intensificadores para promover a reepitelização e produção de colágeno (EL-ASHRAM et al., 2021).

004. Neste contexto, *Syagrus coronata* é uma oleaginosa comestível conhecida por produzir grande quantidade de óleos e vem sendo utilizada na medicina popular para diferentes finalidades terapêuticas, por exemplo, o óleo essencial extraído de suas sementes apresentou atividade bactericida e anti-biofilme de *Staphylococcus aureus* (SANTOS et al., 2019).

005. As propriedades cicatrizantes dos fitoterápicos ainda podem ser potencializadas através de sua aplicação em nanossistemas poliméricos com a possibilidade de permitir uma transferência de componentes ativos para rápida recuperação da ferida entre outros fatores (MOHOLKAR et al., 2021).

006. No banco nacional de patentes do INPI foi possível obter apenas os seguintes registros com o gênero *Syagrus*: BR 10 2021 004384 9 intitulado "COMPOSIÇÃO DE CHOCOLATE BRANCO, AO LEITE OU AMARGO CONTENDO SYAGRUS CORONATA (LICURI)"; BR 10 2019 022306 5, intitulado "FORMULAÇÃO DE CERVEJA DE LICURI (SYAGRUS CORONATA) E PROCESSO DE OBTENÇÃO"; BR 10 2019 013500 0, intitulado "COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA USO EM DESORDENS CARDIOVASCULARES A PARTIR DO EXTRATO DE COCO ARIRI (SYAGRUS COCOIDES MARTIUS)"; BR 10 2019 002950 1, intitulado "COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS NO TRATAMENTO DE AFECÇÕES DERMATOLÓGICAS A PARTIR DO ÓLEO VEGETAL DE COCO ARIRI (SYAGRUS COCOIDES MART.)"; BR 10 2017 000495, intitulado "USO DE ÓLEO DE SYAGRUS CEARENSIS, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E COMPOSIÇÃO COSMÉTICA"; PI 0903475-7, intitulado "PROCESSO E DISPOSITIVOS PARA FABRICAÇÃO DE BRIQUETES A PARTIR DE FINOS DE CARVÃO VEGETAL COM AGLOMERANTE A BASE DE EXTRATO DE FRUTOS DE PALMEIRAS DA ESPÉCIE SYAGRUS"; PI 0701215-2, intitulado "CREME HIDRATANTE (EMULSÃO COSMÉTICA) CONTENDO ÓLEO DE SEMENTES DE GUARIROBA (*Syagrus oleracea* Becc.)"; e PI 0402893-7, intitulado "UTILIZAÇÃO DO ÓLEO DE OURICURI (SYAGRUS CORONATA) PARA EM PACIENTES SUBMETIDOS A TRATAMENTO COM DROGAS QUIMIOTERÁPICAS". No entanto, não foi possível obter nenhum pedido ou depósito que apresente o método de nanoencapsular o óleo fixo de *S. coronata* e nem a aplicação cicatrizante da composição utilizada na referida invenção proposta.

007. Ademais, quando foi pesquisado no banco nacional de patentes do INPI sobre aplicações do óleo do licuri, foram encontrados os depósitos: BR 10 2019 011775 3, com título "COMPOSIÇÃO COSMÉTICA ANTI-POLUIÇÃO, USO DE ÓLEO DE LICURI PARA PREPARAÇÃO DA DITA COMPOSIÇÃO E MÉTODO COSMÉTICO"; e BR 10 2017 028213 9, intitulado "COMPOSIÇÃO COSMÉTICA COMPREENDE ÓLEO DE LICURI, USO DA DITA COMPOSIÇÃO E MÉTODO COSMÉTICO". Contudo, nenhum depósito foi encontrado que utilizasse o óleo para aplicação tópica em feridas.

008. No Google Patentes, buscando os termos “*Syagrus coronata*” e “healing”, não foi encontrado pedido de patente que relata a espécie *S. coronata* como componente ativo, sobretudo seu óleo, para formulações cicatrizantes, enfatizando o potencial inovador da presente invenção.

Vantagens da Invenção

009. A utilização do óleo de *S. coronata* com atividade cicatrizante, destaca-se como uma alternativa natural para a utilização de tratamentos mais custo-efetivos de feridas, os quais incluem a aplicação tópica de curativos que pode ser acompanhada com o uso de medicamentos. Ademais, o óleo é de fácil obtenção, sua matéria prima é abundante em um bioma específico do Brasil e relativamente de baixo custo quando comparado aos já comerciais. Por conseguinte, a produção de nanocápsulas poliméricas contendo o óleo pode fornecer uma deposição melhorada do óleo no local da ferida, promover liberação controlada e prolongada do princípio bioativo, melhorar a solubilidade do óleo que é lipofílico, facilitar a penetração do agente bioativo pelas membranas celulares bem como como prolongar o tempo de prateleira pensando na comercialização do óleo como agente cicatrizante.

Breve descrição da Invenção

010. A presente invenção resultou na constatação da propriedade cicatrizante do óleo extraído das sementes de *S. coronata* (OFSC) e realizou a obtenção de uma formulação através da nanoencapsulação de OFSC bem como sua conseguinte caracterização físico-química e avaliação da atividade cicatrizante.

Descrição detalhada da invenção

011. O OFSC foi obtido comercialmente na Cooperativa de Produção da Região do Piemonte da Diamantina (COOPES), localizada em Capim Grosso, na Bahia-PE. Posteriormente foi realizada a caracterização química do óleo, bem como seu fracionamento para produção de uma fração enriquecida e hidrolisada do ácido graxo majoritário.

012. As nanocápsulas poliméricas foram preparadas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado. Para tanto, uma fase orgânica de acetona contendo o polímero (Eudragit® RS100) e óleo de Licuri foi injetada numa solução aquosa contendo o tensoativo de elevado EHL, polissorbato 80. A acetona foi removida sob pressão reduzida e o volume final ajustado. Obteve-se então no final uma formulação de nanocápsulas poliméricas produzidas com o polímero Eudragit RS100 contendo 10 mg/mL do óleo de licuri, a qual foi denominada de NC RS100 10 e cujas proporções dos reagentes podem ser visualizados na Figura 1.

013. A caracterização físico-química da formulação foi realizada a fim de investigar a distribuição do tamanho de partícula que foi determinada através da técnica de difração de laser (Mastersizer® 2000, Malvern). Para essa determinação, foi utilizado como parâmetro o índice de refração do Eudragit® RS100 (1,39), o diâmetro médio baseado no número (D4,3) também foi determinado por esta técnica. Medidas do diâmetro de partículas correspondentes a 10%, 50% e 90% da distribuição acumulada (d0,1; d0,5 e d0,9) foram realizadas para o cálculo do *span*, que é definido como uma medida da dispersão granulométrica, sendo este calculado pela equação 1.

$$span = \frac{d_{0,9} - d_{0,1}}{d_{0,5}} \quad \text{Eq. 1}$$

014. O diâmetro médio das partículas (*z*-average), bem como o índice de polidispersão (PDI) da formulação foram determinados após a diluição das amostras (500 vezes) em água Milli-Q® previamente filtrada em filtro 0,45 µm. A técnica empregada foi o espalhamento de luz dinâmico em Zetasizer® nanoseries (Malvern Instruments, modelo ZEN 3600). As determinações ocorreram à temperatura ambiente. Os valores de pH das suspensões foram determinados logo após a preparação, utilizando um potenciômetro previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e pH 7,0.

015. O potencial zeta das suspensões foi determinado através de mobilidade eletroforética em Zetasizer[®] nanoseries. Esta determinação foi realizada após diluição das amostras (500 vezes) em NaCl 10 mM previamente filtrado em membrana 0,45 µm.

016. O ensaio de cicatrização foi conduzido no biotério da Universidade CEUMA em São Luís no Maranhão, todos os procedimentos realizados nos animais foram conduzidos em estrita conformidade com os órgãos competentes, a partir da aprovação do Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA - UNICEUMA) da Instituição, sob o protocolo nº 00013/18. Foram utilizados camundongos *Swiss*, fêmeas com 6 a 8 semanas de vida, procedentes do biotério da Universidade CEUMA.

017. Para realização do procedimento cirúrgico experimental, os camundongos foram previamente anestesiados com cloridrato de xilazina (1 mg.kg⁻¹) e cloreto de cetamina (50 mg.Kg⁻¹), intramuscular (I.M.). Posteriormente foi realizado a tricotomia e a antissepsia da região dorsal torácica. A pele foi demarcada usando-se um molde de papel adesivo (0,64 cm²) esterilizado, e a ferida cutânea foi produzida por excisão da pele com tesoura de pontas tipo romba e pinça de dissecação, até sua total ressecção.

018. Foram preparadas soluções estoque contendo as diferentes concentrações do OFSC: 10%, 25% e 100%. Para o preparo das soluções, o OFSC foi posto em contato com uma solução aquosa com dimetilsulfóxido (DMSO) 2% e posto em equipamento ultrassom por 15 minutos para solubilização. O tratamento foi realizado por meio da aplicação direta de uma dose diária de 20 µL destas soluções estoques diariamente, seguido da adição de um curativo pós coleta. O grupo negativo consistiu nos animais que receberam uma solução de DMSO 2% e o controle positivo consistiu na loção comercial Dersani. As feridas foram avaliadas 24 horas após a indução da lesão e diariamente durante o tratamento, observando-se na ferida e na área circunscrita os seguintes parâmetros: hiperemia, edema, hematoma, sangramento, secreção, odor, prurido, presença e característica das crostas, presença de necrose, coloração e aspecto do tecido de granulação e cicatricial.

019. Todas as feridas foram fotografadas e medidas seus diâmetros maior e menor por meio do *software* imageJ. Para a mensuração da área da lesão foi utilizada a equação 2:

$$\text{Área da ferida: } \pi \cdot R \cdot r \quad \text{Eq. 2}$$

Onde, “R” é o raio maior e “r” é o raio menor.

O grau de contração foi expresso em percentual e mensurado pela equação 3:

$$\text{Contração da ferida (\%): } 100X (W_o - W_i) / W_o = \% \text{ de contração.} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde, W_o é a área inicial da ferida e W_i é a área no dia do mensuramento.

020. A cromatografia gasosa revelou a presença de oito compostos (Figura 2), destacando o ácido láurico como componente majoritário, correspondendo a aproximadamente 44% do conteúdo total do óleo, seguido pelo ácido mirístico (14,32%) e ácido oleico (11,78%), além de outros compostos em concentração igual ou inferior a 10%.

021. A caracterização físico-química de NC RS100 10 revelou um D4,3 (que pode ser entendido como volume médio do diâmetro), de 135 ± 3 nm, que é um dado alinhado com o PDI que foi de $0,138 \pm 0,009$. O *span* calculado foi na ordem de $0,975 \pm 0,001$, enquanto o z-average foi de 133 ± 1 nm e a formulação apresentou ter carga de superfície positiva uma vez que o potencial zeta foi de $+4,42 \pm 0,44$.

022. A avaliação clínica indicou feridas livres de exsudado nos animais tratados com Dersani e OFSC nas concentrações de 25%, 100% e NCRS 100 10 ao passo que os animais tratados com DMSO 2% e o OFSC a 10% apresentaram exsudato até o terceiro dia após o início do experimento, sendo que o primeiro grupo (DMSO 2%) apresentou um exsudato serosanguinolento, ao passo que o segundo além de ser um exsudato menos intenso, foi apenas seroso. Da mesma forma, todos os grupos tratados apresentaram edema 48 horas após a incisão da ferida, sendo persistente até o terceiro dia nos grupos tratados com DMSO 2% e OFSC 10%, vale ressaltar que estes dois grupos também apresentaram edema mais acentuado quando comparado aos demais grupos.

023. Quanto ao tipo de tecido na ferida, nas primeiras 24 horas após a incisão da ferida e aplicação do tratamento, os grupos tratados com DMSO 2% e OFSC 10% e OFSC 25% não apresentaram formação de crosta, como descrito na Figura 3 e visualizado na Figura 4, ao passo que as feridas tratadas com Dersani e com OFSC 100% e NCRS100 10 apresentaram tecido crostoso já nas primeiras 24 horas. Por volta do terceiro dia estes mesmos grupos, junto ao OFSC 10% e 25% apresentaram tecido de granulação nas bordas das feridas. Os animais tratados com DMSO 2% apresentaram esta mesma característica por volta do 4º dia.

024. Além das observações clínicas, a aplicação tópica do OFSC, em todas as concentrações, foi capaz de induzir uma aceleração na contração das feridas. Os animais tratados com DMSO 2% apresentaram a menor velocidade de contração da área da ferida, entre o primeiro e o terceiro dia a contração foi cerca de $12,9 \pm 2\%$, não havendo diferença estatística em comparação aos animais tratados com OFSC 10%, que por sua vez, apresentou um aumento discreto na de contração da ferida apenas no dia 7 (Figura 5).

025. Já os animais tratados com Dersani, OFSC 25% e NCRS100 10 apresentaram uma contração da área da ferida de $27,55 \pm 3,1\%$, $24,15 \pm 1,9\%$ e $30,22 \pm 2,35$ respectivamente, ao passo que o grupo tratado com OFSC 100% apresentaram um fechamento de $38,36 \pm 4,59\%$ da área da ferida no terceiro dia, porém no 7º dia, a área das feridas dos animais destes grupos havia fechado na mesma proporção, não havendo diferença significativa entre a média destes 3 grupos ($p < 0,0001$). A formulação de nanocápsulas apresentou resultados similares ao Dersani e ao OFSC 25% 3 dias após o início do tratamento, porém, nos 7º e 10º dia após o início do experimento, os resultados são equiparáveis ao OFSC 100%.

REFERÊNCIAS

026. DONG, R.; GUO, B. Smart wound dressings for wound healing. **Nano Today**, v. 41, p. 101290, 2021.

027. EL-ASHRAM, S.; EL-SAMAD, L.M.; BASHA, A.A.; EL WAKIL, A. Naturally-derived targeted therapy for wound healing: Beyond classical strategies. **Pharmacological Research**, v. 170, p. 105749, 2021.

028. MIHAI, M.M. et al. Nanomaterials for wound healing and infection control. **Materials**, v. 12, p. 2176, 2019.

029. MOHOLKAR, D.N. et al. Recent advances in biopolymer-based formulations for wound healing applications. **European Polymer Journal**, v. 160, p. 110784, 2021.

030. SANTOS, B.S. et al. Anti-staphylococcal activity of *Syagrus coronata* essential oil: Biofilm eradication and *in vivo* action on *Galleria mellonella* infection model. **Microbial Pathogenesis**, v. 131, p. 150-157, 2019.

REIVINDICAÇÕES

001. COMPOSIÇÃO À BASE DO ÓLEO DE LICURI (*Syagrus coronata*) PARA O TRATAMENTO DE FERIDAS, **caracterizado por** ser um produto á base óleo do licuri (*Syagrus coronata*), contendo teores de ácido octanoico (10,05%), ácido decanoico (6,40%), ácido láurico (43,64%), ácido mirístico (14,32%), ácido palmítico (6,89%), ácido esteárico (3,83%), ácido oleico (11,78%) e ácido linoleico (3,10%).

002. COMPOSIÇÃO À BASE DO ÓLEO DE LICURI (*Syagrus coronata*) PARA O TRATAMENTO DE FERIDAS citado na Reivindicação 1, **caracterizado por** obter misturas a base óleo do licuri (*Syagrus coronata*) em teores de 10%, 25% e 100% em dimetilsulfóxido (DMSO) a 2%.

003. COMPOSIÇÃO À BASE DO ÓLEO DE LICURI (*Syagrus coronata*) PARA O TRATAMENTO DE FERIDAS citado na Reivindicação 1 e 2, **caracterizado por** encapsular o óleo do licuri (*Syagrus coronata*), em formulação contendo Eudragit RS100, acetona, polissorbato 80 e água.

004. COMPOSIÇÃO À BASE DO ÓLEO DE LICURI (*Syagrus coronata*) PARA O TRATAMENTO DE FERIDAS citado na Reivindicações 1,2 e 3, **caracterizado por** ser um produto para uso tópico aplicável à pele humana e animal.

005. COMPOSIÇÃO À BASE DO ÓLEO DE LICURI (*Syagrus coronata*) PARA O TRATAMENTO DE FERIDAS citado na Reivindicações 1, 2, 3 e 4, **caracterizado por** ser um produto com ação cicatrizante de ferimentos provocados por corte, laceração, perfuração, punção, subcutâneo, cutâneo, agudos, crônicos e queimaduras, e suas combinações.

DESENHOS

Figura 1.

Componentes	NC RS100 10
Eudragit RS100	100 mg
Óleo de Licuri	100 mg
Acetona	25 mL
Polissorbato 80	78 mg
Água	50 mL

Figura 2.

Composto	Concentração (%)
Ácido octanoico (C8:0)	10,05%
Ácido decanoico (C10:0)	6,40%
Ácido láurico (C12:0)	43,64%
Ácido mirístico (C14:0)	14,32%
Ácido palmítico (C16:0)	6,89%
Ácido esteárico (C18:0)	3,83%
Ácido oleico (C18:1)	11,78%
Ácido linoleico (C18:2)	3,10%

Figura 3.

Tratamento	Parâmetro Clínico		
	Exsudato	Edema	Tipo de Tecido
Dia 1			
DMSO 2%	++	++	Escara
Dersani	-	+	Crosta
OFSC 10%	+	++	Escara
OFSC 25%	+	+	Escara
OFSC 100%	-	+	Crosta
NC RS100 10	-	+	Crosta
Dia 3			
DMSO 2%	+	+	Crosta
Dersani	-	-	Crosta/Granulação
OFSC 10%	-	+	Crosta/Granulação
OFSC 25%	-	-	Crosta/Granulação
OFSC 100%	-	-	Crosta/Granulação
NC RS100 10	-	-	Crosta/Granulação
Dia 7			
DMSO 2%	-	-	Crosta/Granulação
Dersani	-	-	Granulação
OFSC 10%	-	-	Crosta/Granulação
OFSC 25%	-	-	Granulação
OFSC 100%	-	-	Granulação
NC RS100 10	-	-	Granulação
Dia 10			
DMSO 2%	-	-	Epitelial
Dersani	-	-	Epitelial
OFSC 10%	-	-	Epitelial
OFSC 25%	-	-	Epitelial
OFSC 100%	-	-	Epitelial
NC RS100 10	-	-	Epitelial

Figura 4.

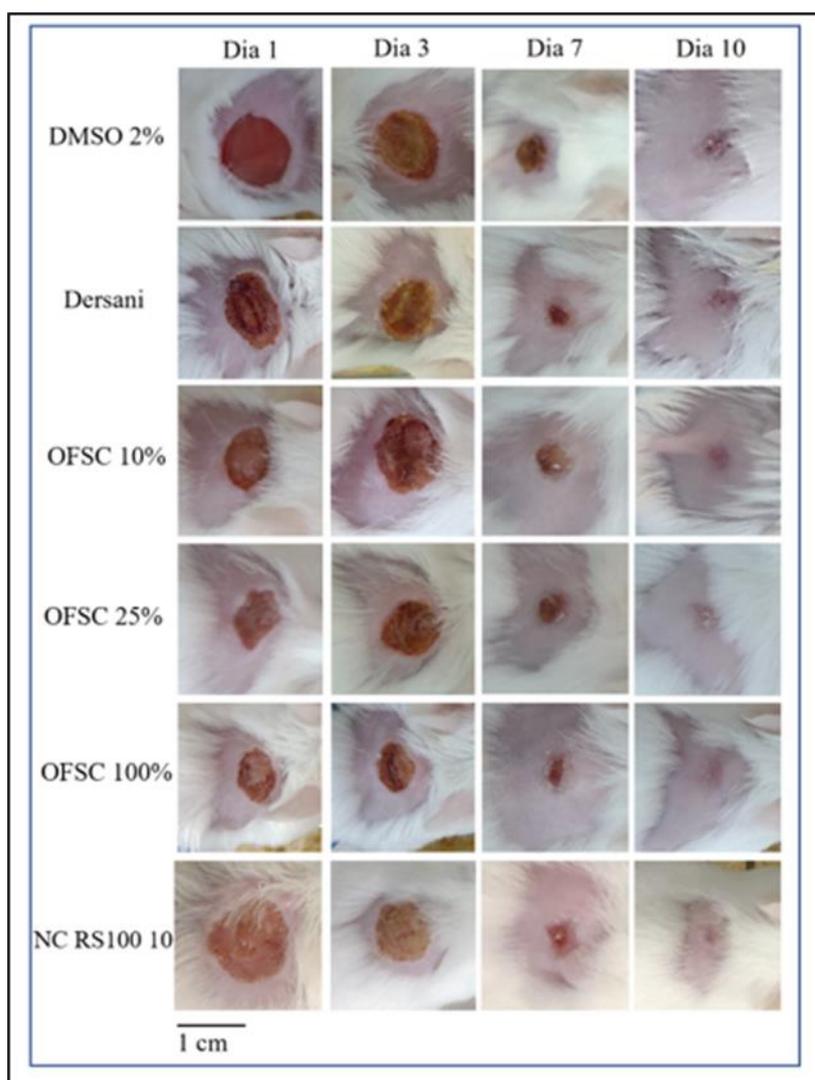
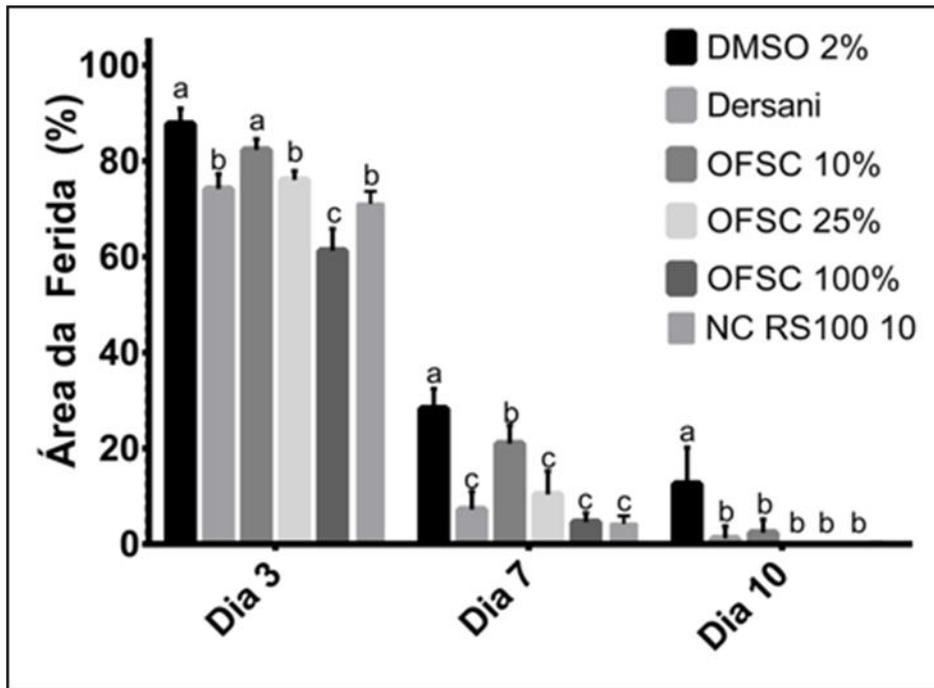


Figura 5.



RESUMO**COMPOSIÇÃO À BASE DO ÓLEO DE LICURI (*Syagrus coronata*) PARA O TRATAMENTO DE FERIDAS**

A presente invenção é referente ao processo de formulação de uma nanocápsula contendo o óleo de *Syagrus coronata*, para uso tópico no tratamento de feridas cutâneas. Para obtenção das nanocápsulas poliméricas foi utilizado uma metodologia de deposição interfacial de polímero pré-formado com uma fase orgânica de acetona e o óleo de *S. coronata*, obtido comercialmente contendo oitos diferentes ácidos graxos em sua composição. Ao final do processo de formulação, foram obtidas nanocápsulas com diâmetro médio de *ca.* 130 nm. Tanto o óleo de *S. coronata*, quanto as nanocápsulas foram testadas quanto ao potencial cicatrizante, ambos foram capazes de induzir uma aceleração da cicatrização de feridas induzindo o fechamento total da área da ferida no décimo dia após o início do tratamento.