



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

(21) PI 1101374-5 A2

(22) Data do Depósito: 14/03/2011

(43) Data da Publicação: 03/01/2017



(54) Título: CÁPSULA E MÉTODOS DE DOSEAMENTO E DISSOLUÇÃO DE PEPEROMIA PELLUCIDA L. (H.B.K.) PARA O TRATAMENTO ANTIMICROBIANO

(51) Int. Cl.: A61K 36/67; A61P 31/04

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARA, UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

(72) Inventor(es): ROSALI MARIA FERREIRA DA SILVA; ALBERTO CARDOSO ARRUDA; MILTON NASCIMENTO DA SILVA; JOSÉ OTÁVIO CARRÉRA SILVA JÚNIOR; KEYLA EMANUELLE RAMOS DA SILVA; MANOLO CLEITON COSTA DE FREITAS; MONIZE SANTOS PEIXOTO; SALVANA PRISCYLLA MANSO COSTA; PEDRO JOSÉ ROLIM NETO; MARA SÍLVIA PINHEIRO ARRUDA; THAYS CRISTIANE BARBOSA DE LUCENA GOMES; LARISSA ARAÚJO ROLIM

(57) Resumo: CÁPSULA E MÉTODOS DE DOSEAMENTO E DISSOLUÇÃO DE Peperomia pellucida L. (H.B.K.) PARA O TRATAMENTO ANTIMICROBIANO. A presente patente refere-se à formulação da forma farmacêutica cápsula e método de doseamento e dissolução de Peperomia pellucida L. (H.B.K.) para o tratamento antimicrobiano contra Staphylococcus aureus e Pseudomonas aeruginosa. A fórmula farmacêutica, contendo como diluente lactose obtida por spray dryer, como adjuvante de secagem dióxido de silício coloidal, e como lubrificantes o estearato de magnésio e o talco, foi avaliada utilizando as determinações do ângulo de repouso e tempo de escoamento, microscopia eletrônica de varredura, porosidade e controle de qualidade físico-químicos, onde foram desenvolvidos os métodos para doseamento e dissolução para as cápsulas obtidas. Os resultados obtidos demonstraram que a formulação atenderam às especificações, mostrando-se economicamente viável, e fornecerão parâmetros para que empreendedores da indústria farmacêutica baseiem-se para a produção e controle de qualidade de intermediários e(...)

CÁPSULA E MÉTODOS DE DOSEAMENTO E DISSOLUÇÃO DE *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.) PARA O TRATAMENTO ANTIMICROBIANO

A presente patente refere-se à formulação da forma farmacêutica cápsula e métodos de doseamento e dissolução de *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.) para o tratamento antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

O extrato etanólico de *P. pellucida* possui atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, apresentando uma concentração inibitória mínima de 62,5 µg/mL.

Esta patente refere-se a um produto farmacêutico na forma cápsula e métodos de doseamento e dissolução de *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.) para o tratamento antimicrobiano. A formulação produzida foi avaliada utilizando as determinações do ângulo de repouso e tempo de escoamento, microscopia eletrônica de varredura, porosidade e controle de qualidade físico-químico, onde foi desenvolvida uma metodologia para doseamento e dissolução para as cápsulas obtidas.

Na obtenção tecnológica da formulação, foram utilizados como matérias primas: o extrato etanólico seco por aspersão de *P. pellucida*, como insumo ativo, lactose obtida por *spray dryer*, como diluente, o dióxido de silício coloidal, como adjuvante de secagem, e o estearato de magnésio e talco, como lubrificantes.

Para a obtenção do extrato etanólico seco da *P. pellucida*, o material vegetal fresco, após a limpeza, foi deixado 3-5 dias secando à temperatura ambiente e levado, para finalização da secagem, em estufa de fluxo de ar contínuo (40-50°C). O material vegetal foi triturado e submerso em solvente etanol à 50-80%, seguindo-se a extração por maceração. A amostra foi filtrada em papel de filtro e armazenada em frasco de vidro.

A tintura foi seca utilizando um equipamento *Spray dryer*, com uma temperatura de atomização 150-160°C. Foi necessária a adição de 20-40% de dióxido de silício coloidal como adjuvante de secagem.

Foram manipulados lotes com peso médio de conteúdo de 150 mg, contendo entre 60-70% de extrato etanólico seco de *P. pellucida*, 20-40% de dióxido de silício

coloidal, 10-20% de lactose obtida por *spray dryer*, 0,5-1,0% de estearato de magnésio, 0,1-0,5% de talco.

O processo foi realizado com duas etapas de mistura, utilizando um misturador em “V”. Na primeira etapa, foram homogeneizados o extrato seco de *P. pellucida* e o diluente, durante cinco minutos. Em seguida, foram adicionados e homogeneizados por dois minutos o estearato de magnésio e o talco. O produto foi encapsulado em invólucro “2” branco e verde e acondicionado em recipiente de polietileno hermeticamente fechado.

Para a determinação do ângulo de repouso e tempo de escoamento, os produtos intermediários dos lotes manipulados foram lançados sobre um funil normatizado, deixando-os cair sobre uma folha de papel milimetrado. Com o auxílio de uma régua, mediu-se a altura (h) do triângulo formado e o raio (r) do mesmo. O ângulo formado é a relação existente entre a altura e o raio do triângulo.

O tempo necessário para que ocorra esse escoamento foi verificado com o auxílio de um cronômetro.

Os valores obtidos com a determinação do ângulo de repouso para os lotes foram entre 4-10°. Quando o valor do ângulo é menor ou igual a 30°, o pó apresenta bom escoamento e, se o valor deste ângulo for superior a 40°, a forma farmacêutica apresentará um fluxo ruim.

Com relação ao tempo de escoamento, os lotes manipulados apresentaram tempo de escoamento entre 1-3 segundos. Pós com tempo de escoamento inferior ou igual a 10 segundos apresentam um bom fluxo na encapsuladeira.

Os lotes apresentaram bom escoamento, sendo confirmado na prática durante a manipulação dos mesmos.

Os produtos intermediários dos lotes também foram analisados através de microscopia eletrônica de varredura. Utilizou-se um instrumento Superscan SS-550. A voltagem de aceleração foi de 10 kV, a distância de trabalho foi de 10 a 15 mm, e o *spot size* foi de 3 ou 4. A amostra foi depositada sobre fitas de carbono em *stubs* de alumínio e foi metalizada com uma camada de ouro de entre 15-30 nm.

Os lotes apresentaram partículas esféricas, com tamanhos entre 10 e 100 μm , superfície irregular, possivelmente devido a alguma porosidade, e alguns aglomerados quebrados.

Na determinação da área superficial e porosidade, foram pesados 200 mg dos produtos intermediários dos lotes os quais foram previamente tratados a 100-200°C por 5 h, em estufa, para otimização do processo de adsorção. Posteriormente, as amostras foram degaseificadas por 24-72 h a 100-150°C para remover qualquer material adsorvido no interior dos poros e na superfície do material. Este processo foi realizado no próprio equipamento que possui doze estações de tratamento.

As análises foram realizadas obtendo-se as isothermas de adsorção e dessorção, e aplicando-se os modelos apropriados para o ajuste dos pontos experimentais. A isoterma de adsorção/dessorção foi obtida pela adsorção física progressiva de nitrogênio a 77 K sobre o material, e subsequente dessorção. A aplicação do modelo de Brunauer-Emmett-Teller (BET) sobre a porção apropriada da curva forneceu o valor da área superficial (S_{BET}). Para a determinação da porosidade (tamanho de poro e volume total de poros), foi utilizado o método de Barret-Joyner-Halenda (BJH).

Para a realização deste ensaio, foi utilizado um Analisador de Área Superficial e Tamanho de Poros ASAP 2440, munido de software próprio para determinar a área superficial e porosidade.

Os resultados da área superficial (BET), volume de poro e tamanho de poro foram entre 18-20 m^2/g , 0,1-0,2 cm^3/g e 200-300 Å, respectivamente.

O produto seguiu a isoterma de BET apresentando linearidade segundo o modelo proposto por Brunauer-Emmet -Teller para cálculo da área superficial.

Os resultados obtidos afirmam que o produto analisado possui mesoporos.

Considerando o parâmetro molhabilidade das partículas, em virtude de um grande tamanho de poros, a formulação obtida possibilitou uma excelente dissolução das cápsulas obtidas.

Para a realização dos testes do controle físico-químico, as metodologias analíticas para peso médio, desintegração, e umidade seguiram a Farmacopéia Brasileira 4ª ed., e a da uniformidade de peso seguiu a United States Pharmacopoeia 33. As metodologias

Para doseamento do marcador por cromatografia líquida de alta eficiência, as amostras dos lotes foram analisadas através de cromatografia líquida de alta eficiência.

As análises foram realizadas em triplicata, pesando-se 100-200 mg de cada amostra. A massa foi transferida para um tubo de ensaio, adicionados 3-6 mL de acetona e, em seguida, foi sonicada durante 10-20 min., utilizando um banho ultrassônico. Posteriormente, a solução obtida foi transferida para frascos de vidro, com o auxílio de pipeta *Pasteur* e um pedaço de algodão utilizado como filtro. Esta solução foi denominada como primeiro volume da extração. A massa retida no tubo de ensaio, foram adicionados mais 3-6 mL de acetona e transferida ao banho ultrassônico para sonicação durante 10-20 min.. Após o término da sonicação, a solução foi pipetada, filtrada, e adicionada ao primeiro volume da extração. Homogeneizou-se. A solução obtida foi filtrada, utilizando um filtro de seringa de nylon de 13 mm e 0,45 μm e, em seguida, foi transferida para uma capela a fim de que todo o solvente fosse evaporado. Após a secagem, a massa proveniente da extração foi tratada por extração em fase sólida (SPE), para reter os interferentes, principalmente clorofila. Solubilizou-se a massa em 900-1000 μL de acetonitrila, com o auxílio do banho ultrassônico por 1 min. Foram adicionados 100-200 μL de água ultra-pura e a solução foi sonicada por mais 1 min. Em seguida, a solução foi transferida para um cartucho SPE Strata C18-E 100 mg/mL, previamente condicionado com 1-5 mL de acetonitrila e 1-5 mL de água ultra-pura. A solução coletada nesta extração (V1) foi desprezada, ficando o analito retido no cartucho. A este cartucho, passaram-se mais 2-5 mL da solução acetonitrila:água, e a solução coletada (V2) foi separada em um frasco de vidro e transferida para a capela para evaporar o solvente. A massa residual foi ressuspensa em 200-300 μL de acetonitrila e analisada por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando um método isocrático com 50-60% de acetonitrila.

Foi preparada uma curva de calibração, nas concentrações entre 2 e 100 ppm, utilizando como solvente a acetonitrila e como marcador 3',4',7-tri-O-metoxiflavona, que foi isolado e identificado por técnicas de Ressonância Magnética Nuclear.

Os parâmetros cromatográficos utilizados foram coluna C18 (250 x 4,6mm, 5 μm ,

Os parâmetros utilizados para o teste de dissolução foram: meio de dissolução - água destilada contendo 0,5-1,0% de lauril sulfato de sódio, volume do meio (500-900 mL), rotação (50-75 rpm), aparato cesta e um intervalo de tempo igual a 45-60 min.

Os parâmetros cromatográficos foram os mesmos utilizados para a análise do
5 marcador descrita anteriormente.

Foram coletados 20-40 mL de cada amostra e a solução foi transferida para um cartucho SPE Strata C18-E 1000 mg/6 mL, previamente condicionado com 5-10 mL de acetonitrila e 5-10 mL de água ultra-pura. A solução coletada nesta extração (V1) foi desprezada, ficando o analito retido no cartucho. A este cartucho, passaram-se 5-10 mL
10 de acetonitrila, e a solução obtida foi filtrada, utilizando um filtro de seringa de nylon de 13 mm e 0,45 µm, e analisada por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando um método isocrático com 50-60% de acetonitrila.

Foi preparada uma solução do marcador 3',4',7-tri-O-metoxiflavona, utilizando como solvente acetonitrila, na concentração de 10-20 mg/mL, que foi utilizada como
15 padrão.

Os resultados para o controle de qualidade físico-químico atenderam às especificações.

REIVINDICAÇÕES

1. CÁPSULA E MÉTODOS DE DOSEAMENTO E DISSOLUÇÃO DE *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.) PARA O TRATAMENTO ANTIMICROBIANO, caracterizado por conter como insumo ativo o extrato etanólico seco por aspersão de *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.).
2. CÁPSULA E MÉTODOS DE DOSEAMENTO E DISSOLUÇÃO DE *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.) PARA O TRATAMENTO ANTIMICROBIANO, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por apresentar atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.
3. CÁPSULA E MÉTODOS DE DOSEAMENTO E DISSOLUÇÃO DE *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.) PARA O TRATAMENTO ANTIMICROBIANO, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado por conter como excipientes lactose obtida por *spray dryer*, dióxido de silício coloidal, estearato de magnésio e talco.
4. CÁPSULA E MÉTODOS DE DOSEAMENTO E DISSOLUÇÃO DE *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.) PARA O TRATAMENTO ANTIMICROBIANO, de acordo com as reivindicações 1, 2 e 3, caracterizada por apresentar bom escoamento, sendo confirmado na prática durante a manipulação do mesmo.
5. CÁPSULA E MÉTODOS DE DOSEAMENTO E DISSOLUÇÃO DE *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.) PARA O TRATAMENTO ANTIMICROBIANO, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizada por apresentar métodos de doseamento e dissolução, específicos e reprodutivos, para as cápsulas obtidas.
6. CÁPSULA E MÉTODOS DE DOSEAMENTO E DISSOLUÇÃO DE *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.) PARA O TRATAMENTO ANTIMICROBIANO, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 5, caracterizada por apresentar uma excelente dissolução das cápsulas obtidas, sendo confirmado pelo tamanho de poros apresentados na formulação.

RESUMO

Patente de Invenção: "CÁPSULA E MÉTODOS DE DOSEAMENTO E DISSOLUÇÃO DE *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.) PARA O TRATAMENTO ANTIMICROBIANO"

- 5 A presente patente refere-se à formulação da forma farmacêutica cápsula e método de doseamento e dissolução de *Peperomia pellucida* L. (H.B.K.) para o tratamento antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. A fórmula farmacêutica, contendo como diluente lactose obtida por *spray dryer*, como adjuvante de secagem dióxido de silício coloidal, e como lubrificantes o estearato de magnésio e o talco, foi avaliada utilizando as determinações do ângulo de repouso e tempo de escoamento, microscopia eletrônica de varredura, porosidade e controle de qualidade físico-químicos, onde foram desenvolvidos os métodos para doseamento e dissolução para as cápsulas obtidas. Os resultados obtidos demonstraram que a formulação atenderam às especificações, mostrando-se economicamente viável, e fornecerão
- 10
- 15 parâmetros para que empreendedores da indústria farmacêutica baseiem-se para a produção e controle de qualidade de intermediários e do produto acabado à base de *P. pellucida*.