



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102016022940-5

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102016022940-5

(22) Data do Depósito: 03/10/2016

(43) Data da Publicação Nacional: 02/05/2018

(51) Classificação Internacional: A61K 9/22; A61K 9/26; A61K 47/36; A61K 35/644; A61P 31/04; A61P 29/00.

(54) Título: MICROCÁPSULAS DE PRÓPOLIS VERMELHA COMPLEXADAS COM QUITOSANA, PROCESSO DE OBTENÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE PRÓPOLIS VERMELHA COMPLEXADAS COM QUITOSANA E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO AS MESMAS

(73) Titular: APÍCULA FERNÃO VELHO, Empresa de Pequeno Porte assim definidas em lei. CGC/CPF: 02285556000105. Endereço: CHACARA ANCORA, 07, VILA GOIABEIRA, FERNÃO VELHO, Maceió, AL, BRASIL(BR), 57070-440, Brasileira; UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 24464109000148. Endereço: AV. LOURIVAL MELO MOTA, S/N, TABULEIRO DO MARTINS, Maceió, AL, BRASIL(BR), 57072-970, Brasileira

(72) Inventor: MÁRIO CALHEIROS DE LIMA; NATALY MIRANDA DO NASCIMENTO; CLINSTON PAULINO DE ALMEIDA; IRINALDO DINIZ BASÍLIO JÚNIOR; MARCOS VINÍCIUS DIAS VERMELHO; CARLOS JACINTO DA SILVA; PIERRE BARNABÉ ESCODRO; ANA FLÁVIA OLIVEIRA SANTOS; JOSEALDO TONHOLO; ZENALDO PORFÍRIO DA SILVA; ADRIANA SANTOS RIBEIRO; MARIA CRISTINA DELGADO DA SILVA; VALDEMIR DA COSTA SILVA; TICIANO GOMES DO NASCIMENTO.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 03/10/2016, observadas as condições legais

Expedida em: 04/02/2025

Assinado digitalmente por:
Alexandre Dantas Rodrigues

Diretor de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

"MICROCÁPSULAS DE PRÓPOLIS VERMELHA COMPLEXADAS COM QUITOSANA,
PROCESSO DE OBTENÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE PRÓPOLIS VERMELHA
COMPLEXADAS COM QUITOSANA E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO
AS MESMAS"

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção na área de produtos medicinais com utilidade na área da saúde humana e veterinária, mais especificamente a aqueles dos sistemas de liberação modificada de princípios ativos medicamentosos e/ou nutricionais, destinados a uma administração por via oral. São propostas as microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana, aqui também chamadas de (QTPV) que promovem a liberação modificada de flavonoides da própolis vermelha, processo de obtenção de QTPV, composições farmacêuticas contendo QTPV e usos. A produção de QTPV está ligada à utilização de tinturas hidroalcoólicas padronizadas de própolis vermelha, princípio ativo nas microcápsulas de própolis vermelha que são revestidas com quitosana, seguido pela técnica de *Spray-Dryer*, apresentando-se em forma de micropartículas aqui também chamados de QTPV.

[002] Adicionalmente, o presente pedido trata de composições farmacêuticas de liberação modificada contendo os ditos QTPV. Diante de tais atividades biológicas dos microcápsulas de liberação modificada da própolis vermelha e quitosana, as QTPV e as composições farmacêuticas contendo as mesmas apresentam aplicação em uma ampla gama de indústrias, como cosmética, farmacêutica, alimentícia e veterinária, principalmente devido a suas atividades antimicrobianas.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[003] Os constituintes da própolis vêm sendo identificados no mundo inteiro (**Pietta, P.; Gardana, C.; Scaglianti, M.; Simonetti, P.,**

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, V. 45, p. 390-399, 2007).

[004] Os flavonoides, ácidos fenólicos e terpenos são as principais substâncias encontradas e utilizadas para rastrear a qualidade e, em alguns casos, para demonstrar a autenticidade da própolis de algumas regiões geográficas (Volpi, N.; Bergonzini, G., **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, V. 42, p. 354-361, 2006).

[005] Dentre os flavonoides e ácidos fenólicos mais comumente utilizados como marcadores, podem ser citados: quercetina, canferol, naringenina, crisina, pinocembrina, galangina (flavonoides); ácido gálico, ácido caféico, ácido p-coumárico, ácido ferúlico, ácido cinâmicos e derivados (ácido fenólicos), clerodanos (diterpenóides) (Rosalen, P.L.; Castro, M. L.; Cury, J.A., **Química Nova**, V. 30, N. 07, 1512-1517, 2007); (Yao, L.; Jiang, Y.; Singanusong, R., Datta, N.; Raymont, K., **Food Chemistry**, V. 86, p.169-177, 2004); (Weston, R. J., Mitchell, K. R., Allen, K. L., **Food Research International**, V. 37, p. 166-174, 2004).

[006] O uso popular cada vez crescente de própolis e seus derivados com ação antimicrobiana (Sforcin, J.M; Fernandes Jr., A.; Lopes, C. A. M.; Bankova, V. And Funari, S. R. C., **J. Ethnopharmacology**, V. 73, p. 243-249, 1998), anti-inflamatória (Khayyal, M.T.; el-Ghazaly, M.A.; el-Khatib, A.S., **Drug Experimental and Clinical Research**, V. 19, p. 197-203, 1993), antiviral (Vynograd, N.; Vynograd, I.; Sosnowisky, Z., **Phytomedicine**, V. 7, p. 1-6, 2000), anticarcinogênica (Bazo, A. P.; Rodrigues, M. A. M.; Sforcin, J.M.; Camargo, J.L.V., Ribeiro,

[007] J.L.; Salvadori, D. M.F., **Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis**, V. 22, p. 183-194, 2002) e imunomodulatória (Sforcin, J. M., Kanemo, R. Funari, S. R. C., **Journal of Venomous Animal and Toxins**, V. 8, p. 19-29, 2002); (Sá-Nunes, A.; Faccioli, L.H.,

Sforcin, J. M., Journal of Ethnopharmacology, V.83, p. 93-97, 2003) vem demonstrando o grande poder terapêutico da própolis em substituição aos medicamentos sintéticos convencionais. [004] A caracterização de todas estas atividades biológicas associadas à tendência de utilização de produtos naturais tem resultado num aumento da demanda de própolis e produtos contendo própolis, como extratos, comprimidos, cápsulas, nebulizações ou pós **(Menezes et al., 1997)**.

[008] Em se tratando da própolis vermelha, esta foi classificada como o 13º subtipo de própolis brasileira encontrada nas regiões de mangues, lagoas, rios e praias do nordeste brasileiro entre os estados da Sergipe, Alagoas, Pernambuco e Paraíba pelo pesquisador **Park e col. (2007)**.

[009] A principal origem botânica da própolis vermelha se deve a planta *Dalbergia ecastophyllum*, localmente conhecida como Rabo-de-Bugio, que apresenta um exsudado resinoso vermelho liberado da sua seiva.

[0010] Pesquisadores nacionais e internacionais com expertise em própolis vêm identificando os constituintes da própolis vermelha. Foram identificados 11 isoflavonóides e 1 chalcona da própolis vermelha cubana e dentre estas substâncias podemos citar: Formononetina (Biochanina B), Bichanina A, vestitol, orto-metil vestitol, medicarpina, homopterocarpina, outros derivados pterocarpanos, liquiritigenina e isoliquiritigenina (chalcona) **(Anna Piccinelli e col. J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 9010-9016)**.

[0011] Foram identificadas também outras subclasses de flavonoides, incluindo novos tipos de flavonoides da própolis vermelha da região nordeste e que podemos citar: rutina, quercetina, luteolina, pinocembrina e biochanina A, formononetina, daidzeina,

liquiritigenina, pinobanksina, dalbergina (neoflavonóides) **(Park e col. eCAM (2008) 5 (4) 435–441).**

[0012] Pesquisadores estudando a própolis vermelha da região dos manguezais de Marechal Deodoro-Alagoas, identificaram o flavonóide crisina e quercetina, novos isoflavonóides na própolis vermelha de Alagoas, o vestitol, 2´4´dihidroximetoxi flavana, benzofenonas isopreniladas, bem como ácido ferúlico e ésteres fenólicos metoxieugenol, metileugenol, guiacol, ésteres dimetílicos de ácido butanenodióico, ésteres metílicos de ácido hexadecanóico **(Alencar e col. eCAM (2008) 5 (3) 313–316).**

[0013] Adicionalmente, pesquisadores identificaram 14 substâncias na própolis vermelha dos manguezais de Alagoas, dentre eles triterpenos (cicloartenol, lupeol, elemicina, α -amirina e β -amirina), ácidos fenólicos (anetol, eugenol e metileugenol), isoflavonóides (isosativan, medicarpina) **(Vassya Bankova e col. eCAM (2006) 3 (2) 249–254).**

[0014] Com vistas à descoberta de moléculas e seus alvos terapêuticos para cura das doenças, a própolis vermelha tem sido submetida a diversos estudos detalhados sobre suas atividades biológicas.

[0015] A presença de vários flavonoides e ácidos fenólicos em extratos e tinturas de própolis mostram que estas substâncias agem sinergisticamente em ação citostática/citotóxica, anti-inflamatória, cicatrizante, antimicrobiana e antioxidante. [011] Desta forma, o coquetel de substâncias combinadas, mesmo que em baixas concentrações, irá promover uma potente ação contra os agentes patogênicos. O desenvolvimento e produção de fitoterápicos e opoterápicos vêm sendo regulado no país com as resoluções que estabelecem metodologias de controle de qualidade desses produtos. Estudos de padronização do fitoterápico e opoterápicos preconizam ensaios de modo a garantir a qualidade destas classes de

medicamentos desde a coleta, *screening* fitoquímico, determinação qualitativa e quantitativa de marcadores fitoquímicos, teste de autenticidade, processamento, produção, estudo de estabilidade, validação de metodologias analíticas, embalagens e controle de qualidade de produto.

[0016] Desenvolvimento de novos sistemas de entrega do fármaco ou alimento funcional (nutracêutico) (**Lira, C. R. G; et al., Rev. Bras. Farm., (2009) 90 (1): 45-49**) em determinados alvos terapêuticos é uma necessidade para se obter o sucesso terapêutico ou que demonstre benefício fisiológico à saúde na prevenção de doenças, e é tão importante quanto a descoberta das moléculas com determinada ação terapêutica. Desta forma, na presente invenção foram planejadas diferentes formulações de uso farmacêutico, nutracêutico ou veterinário na forma sólida de uso preferencialmente oral e de liberação modificada.

[0017] No desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos ou substâncias com atividade funcional (nutracêutico) é de extrema importância a escolha dos excipientes farmacêuticos com propriedades inertes (sem ação farmacológica ou terapêutica), sendo essenciais numa composição farmacêutica/alimentícia, pois apresentam características que asseguram estabilidade à composição, facilitam a administração, promovem a liberação das substâncias ativas da matriz químico-farmacêutica promovendo desta forma a biodisponibilidade e consequentemente a ação farmacológica, bem como a aceitabilidade pelo consumidor.

[0018] Para o desenvolvimento de sistema de liberação de fármaco/nutracêutico na forma sólida é necessário ter um conjunto de excipientes que irão liberar adequadamente o fármaco ou substâncias ativas de uma matriz farmacêutica ou alimentícia e dentre eles estão os excipientes: diluentes, aglutinantes, desagregantes, corantes, flavorizantes, edulcorantes, tensoativos

ou molhantes, fluidificantes e lubrificantes. Do ponto de vista do processo e dos custos de produção, incompatibilidades farmacotécnicas entre as substâncias ativas e os excipientes devem ser evitadas.

[0019]A escolha e o número de excipientes influenciam na liberação do fármaco da matriz e na absorção para os fluidos biológicos (sangue e sistema circulatório).

[0020]Desta forma, o número de excipientes deve ser reduzido para o mínimo possível e deve conter somente excipientes essenciais **(Croeley, 1999; Robertson, 1999)**.

[0021] Técnicas de microencapsulação são utilizadas pelas indústrias farmacêuticas e alimentícias com o intuito de solucionar gargalos tecnológicos dentre eles: proteger a(s) substância(s) ativa(s) contra agentes extrínsecos (umidade, luz, oxidação) aumentando o prazo de validade do produto, prevenir a perda de substâncias voláteis, promover liberação controlada de substâncias ativas, bem como melhorar características específicas de fluidez de pós durante processos específicos de compressão de comprimidos ou no enchimento de cápsulas gelatinosas.

[0022]O desenvolvimento de microencapsulados sólidos pode ser obtido pela técnica de *Spray-Dryer* (secagem por nebulização) e pode resolver alguns problemas industriais na área farmacêutica e alimentícia devido a natureza insolúvel de alguns fármacos ou presença de matrizes complexas contendo diversas substâncias com propriedades diferentes de solubilização que pode dificultar processos de absorção e consequentemente efeito terapêutico.

[0023]No processo de microencapsulação os excipientes farmacêuticos são escolhidos adequadamente para promover uma parede de revestimento estável em proporção adequada que promova o encapsulamento das substâncias de interesse numa matriz de

revestimento formando, dependendo do tamanho de partículas, as micropartículas ou até mesmo nanopartículas.

[0024] Produtos e processos com base na própolis têm sido desenvolvidos no mundo inteiro, por diferentes grupos de pesquisas, para diferentes finalidades e de diferentes modos. Existem na literatura uma grande quantidade de composições farmacêuticas, cosméticas, higiene e limpeza, nutraceuticas, alimentos funcionais, conservantes de alimentos utilizando própolis, quitosana ou a combinação de ambos. Os documentos a seguir descrevem estas aplicações.

[0025] Patente de invenção (WO/2016/066876) apresenta um compósito com atividade antimicrobiana que na sua composição é formado por três componentes formada por quitosana, compostos fenólicos de própolis e um componente manométrico de prata. Patente de invenção CN104055720 utiliza própolis, quitosana, óxido de zinco, norfloxacin, medicamentos tradicionais chineses, quitina, quitosana, mel e própolis utilizada como loção cosmética para cuidar da pele. Patente de invenção CN104001003 utilizada como um spray sublingual para diabetes é composto de várias substâncias ativas como própolis ginseng americano, ácido lipóico, extratos de plantas, amido de arroz, vinagre, quitosana e picolinato de cromo.

[0026] Patente KR 201210169990.2 apresenta uma biomembrana semelhante ao um emplastro para tratamento de feridas da pele e feridas cirúrgicas composta de polivinilbutírico, goma de rosina (colophony), mais de um tipo de própolis, quitosana, além de solventes álcool e água para preparar o sistema coloidal. Patente de invenção CN102283865 compreende uma composição de quitosana e própolis com proporção entre 5 a 20 partes de quitosana e 95 a 80 partes de própolis com finalidades de reduzir a diabetes, colesterol, gordura e viscosidade do sangue. Patente de invenção KR1020110092509 constituída de veneno de abelha, própolis e

quitosana apresenta atividade antimicrobiana para tratamento da mastite.

[0027] A Patente de invenção CN102091097 desenvolve um gel feminino de limpeza íntima composto por quitosana, extrato de própolis, biguanidina, halogenato de bifenil éter, polímero gelificante, trietilamina, quelante, emoliente e água. Patente de invenção CN102657596 compreende uma composição com fator estimulante de células troncos da raiz capilar e dos os folículos capilares que compreende de extrato de plantas, extrato de ginseng, extrato de largato chinês, quitosana e própolis.

[0028] Patente de invenção CN101690564 desenvolve um produto para tratamento e trombose a base de pó de natto, própolis, ginseng, geléia real, quitosana e outros ingredientes.

[0029] Patente de invenção CN101564511 desenvolve um produto a base de uma proteína natural que compreende uma mistura de vários ingredientes naturais como pó de natto, géleia real, própolis, quitosana, balsamo, ginseng e outros ingredientes.

[0030] Patente de invenção CN101559215 desenvolve líquido para reparar a pele compreende gelatina, quitosana, extrato de plantas chinesas, extratos de outras plantas chinesas, lótus, própolis. Patente de invenção KR 1020060124927 desenvolve uma preparação solúvel em água para tratamento e reparo de feridas na pele e inclui entre os ingredientes própolis e quitosana, alginatos, gelatina, carragenina, PVP, PVA, ceramidas, vitaminas A, E, C e outros ingredientes. Patente de invenção KR1020060107232 desenvolve um medicamento fitoterápico multi-ervas que compreende diferentes extratos de plantas ginseng, própolis e quitosana.

[0031] Patente CN101361907 desenvolve uma preparação hipoglicêmica e anti-hipertensiva que compreende extrato de mahogany chinês principal componente da preparação, própolis quitosana e extrato

de outras plantas. Patente de invenção CN101088518 desenvolve uma preparação para reduzir ou regular a glicose sanguínea composta de própolis, ginseng, geléia real, pólen, quitosana e outros extratos de planta.

[0032] Patente de invenção CN1981783 apresenta uma preparação para ajustar a função imune que compreende própolis, geleia real, pólen de abelha, pupa e quitosana. Patente de invenção KR1020070043174 desenvolve uma preparação pasta dental para doenças da cavidade oral e outros órgãos compreende composição contendo antibióticos, flúor, substâncias abrasivas, xilitol, outras substâncias como própolis e quitosana. P

[0033] Patente de invenção KR1020120080472 desenvolveu uma composição sólida para limpeza dos dentes composta de xilitol, sacarina, sal, flúor, sílica, perfume e adicionalmente quitosana ou própolis.

[0034] Patente de invenção CN102085370 desenvolve um spray oral anti-inflamatório para doenças da cavidade oral e compreende quitosana, extrato de própolis, lactoferrina, imunoglobulinas, lactoperoxidasas, lisozimas, extrato colostro bovino, estabilizantes e substâncias aromáticas. Patente de invenção KR1020100136726 desenvolve uma pasta dental contendo diferentes ingredientes, incluindo silicatos, zeolitas, própolis e quitosana para tratamento de dor de dente, inflamação gengival e inibir crescimento de bactérias.

[0035] Patente de invenção CN102920652 prepara microencapsulados de própolis com outros biopolímeros: a quitosana, hidroxipropil betaciclodextrina e glicerofosfato de sódio para tratamento de patologias periodontais. Patente de invenção RU02287323 desenvolve um fixador de dentaduras e também compreende glúcerol, hidrogel de silício, silicone, gelatina e própolis.

[0036] Patente de invenção KR10200660108917 desenvolve uma pasta de dente para tratar e prevenir doenças periodontais inclui extratos de plantas, própolis, quitosana, alantoina e xylitol. Patente de invenção 100621191 desenvolve uma composição de pasta dental com ação antimicrobiana para *Streptococcus mutans* e compreende vários ingredientes incluindo polisina, própolis, quitosana, xilitol, polisorbatos.

[0037] Patente de invenção KR1020030087724 desenvolve composição nutracêutica com extratos de plantas, própolis, quitina ou quitosana, extratos fermentados de plantas alho, aloe, cenoura, outros. Patente de invenção JP2003055238 desenvolve uma composição com atividade contra osteoporose e compreende cálcio, própolis e quitosana em proporções entre 8 a 32%. Patente de invenção RU02120272 desenvolve uma composição de creme cosmético para proteção da pele durante o inverno e compreende mistura de sais, glicerina, óleos vegetais e extratos de vegetais, gel de quitosana, gel de carragena, cera de abelha, própolis.

[0038] Patentes de invenção na área de alimentos funcionais, nutracêuticos e conservantes de alimentos vem sendo utilizada utilizando própolis e quitosana. Patente KR1019980085889 utiliza extratos secos ou liofilizados de diversas plantas para tratamento da obesidade dentre elas: extrato de benincasa cerifera savi, extrato de *Thea chinensis*, amora, extrato de garcinia cambogia, própolis, angélica coreana, dextrina e quitosana.

[0039] Patente KR1019990047621 desenvolve método para aumentar prazo de validade de Kimchi, um tipo de condimento fermentado da culinária coreana, utilizando própolis ou quitosana, surfactantes e os ingredientes do kimchi a ser processado utilizando extração em fluido supercrítico.

[0040] Patente KR1020000034717 desenvolve alimento funcional que utiliza própolis, quitina ou quitosana e cartilagem de tubarão para reduzir os sintomas das dores articulares, reumatismo e estimular a imunidade. Patente de invenção JP2001112443 desenvolve alimento funcional a base de ácido kójico, pó das ostras, quitosana, ácidos orgânicos, oligosacarídeos, ácidos nucleicos e Lentinus edodes Sing (cogumelos).

[0041] Patente de invenção KR1020070078753 desenvolve um método de preparar alimento saudável e compreende ingredientes como suco de Aloe, suco de alho, suco de ginseng, quitosana, própolis, mel e gengibre.

[0042] Patente de invenção KR1020070098215 desenvolve alimento funcional a base de própolis, quitosana, minerais, vitaminas, extratos de ervas rico em alcaloides. Patente de invenção CN101248902 desenvolve um material de revestimento do extrato de panax ginseng utilizando vários ingredientes incluindo quitosana, própolis, isoascorbato de sódio, baijiu (licor chinês) e panax ginseng. Patente de invenção KR 1020070119589 desenvolve alimento funcional a base de gengibre, ginseng, alho, mel, própolis e quitosana para tratar fadigas, prevenir doenças, curas feridas. Patente de invenção KR1020090036306 desenvolve um método para preparação de macarronetes de arroz GOAMI incluindo diversos ingredientes incluindo própolis, quitina e quitosana.

[0043] Patente de invenção CN101965863 desenvolve agente de microencapsulação de vegetais e frutas a base de quitosana, beta-ciclodextrina, glicerol e tween 80 para revestir frutas. Patente de invenção CN102613660 desenvolve uma composição utilizada como conservante de alimentos cozidos que compreende própolis, quitosana, nisina e natamicina.

[0044] A Patente de invenção CN103603233 desenvolve um material de embalagem de alimentos utilizando ácido algínico, alginato de sódio, ácido acético quitosana, própolis, sacarose, ésteres de ácidos graxos e álcool etílico.

[0045] A Patente de invenção CN104054801 desenvolve um filme de proteção solúvel para conservação de camarão fresco que compreende quitosana, ácido acético, caseinato de sódio, sorbitol, ácido fítico, trealose, carragena, extrato de própolis, extratos de gengibre e alho. Patentes de invenção CN104610757 e CN104010760 desenvolve filme de proteção de alimentos (amêndoas, amendoim e cereais) a base de quitosana, carboximetilcelulose, PVA, própolis, carbonato de cálcio, alginato de sódio, citrato de cálcio e outros ingredientes. Patente de invenção CN104585839 desenvolve filme de conservação de alimentos usando quitosana, própolis, EDTA lisozima, etanol, ácido sórbico e outros ingredientes.

[0046] Nenhum dos documentos de patente descritos revela uma preparação contendo extrato de própolis vermelha, quitosana e aerossil, métodos de caracterização do sistema encapsulante, bem como um método de dissolução para avaliar o grau de liberação das substâncias ativas das composições.

[0047] Adicionalmente às características já descritas, comparando os microencapsulados obtidos no estado da técnica com os propostos pelo presente documento de patente, nenhum microencapsulados citado no estado da técnica apresentam como substância bioativa o extrato da própolis vermelha dos manguezais de Alagoas, além de não constarem de microencapsulados de liberação modificada dos princípios ativos. No presente documento, a expressão "liberação modificada" designa indiferentemente uma liberação do princípio ativo (ou princípios ativos que se inicia desde a colocação da preparação farmacêutica ou preparação galênica no meio de dissolução (in vitro) ou ainda uma liberação do (ou dos)

princípio(s) ativo(s) que se inicia no tempo 0 até várias horas (entre 6 a 24 horas) diferentemente das preparações de liberação imediata em que percentagem maior que 75% ou todo o princípio ativo é liberado entre 15 minutos a 120 minutos.

[0048] Assim, no sentido da invenção, uma liberação modificada do princípio ativo corresponde a uma percentagem de liberação do (ou dos) princípio(s) ativo(s) entre 20 e 70% num período compreendido de 12 horas e preferencialmente entre 40 e 60% no mesmo período, por exemplo.

[0049] Desta forma, as modalidades da invenção descritas neste documento apresentam vantagens consideráveis frente ao estado da técnica.

[0050] A invenção proposta no presente documento busca o preenchimento de uma lacuna tecnológica em termos da aplicação da própolis vermelha como elemento ativo de composições farmacêuticas de liberação modificada para o tratamento e prevenção de doenças, propondo-se uma forma de liberação modificada dos microencapsulados da própolis vermelha. As microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana (QTPV) podem ainda serem utilizados na composição de alimentos funcionais, bem como filmes de revestimento de alimentos promovendo assim a conservação dos mesmos contra bactérias e fungos. Desta forma, propõem-se As microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana (QTPV), composições com a utilização de QTPV, processos para obtenção de QTPV e usos destes produtos para preparo de medicamentos com ação antimicrobiana e antioxidante.

[0051] Cumpre salientar que, a utilização da própolis vermelha é característica determinante na inovação, em termos das tecnologias da própolis, visto que, a própolis vermelha apresenta composição característica, que, terá função primordial na atividade dos

microencapsulados QTPV e demais composições farmacêuticas, para prevenção e tratamento de doenças.

[0052] Ainda, como diferencial essencial frente ao estado da técnica, microencapsulados QTPV e composições farmacêuticas propostos na presente invenção, utilizam compostos em uma matriz intermediária de revestimento de bioativos que contêm excipientes farmacêuticos inertes, atóxicos, de baixo custo, estáveis com característica reológica para sólidos farmacêuticos, de liberação modificada e uma matriz externa contendo excipientes farmacêuticos usuais. D

[0053] esta forma, a composição aqui revelada pode ser usada para solucionar problemas técnicos semi-industriais e industriais nas áreas alimentícia e farmacêutica, bem como algumas aplicações de uso terapêutico.

[0054] Em geral, os microencapsulados de própolis existentes no mercado são obtidos com excipientes diversos e que não se conhece o mecanismo de liberação (liberação imediata, liberação retardada/modificada ou ainda liberação controlada).

[0055] Outro problema que se tem no mercado é que o processo de microencapsulação pode reduzir ou inativar a ação biológica dos compostos ativos presentes no extrato de própolis, fato que não ocorre com o produto aqui proposto, que mantém a ação biológica do(s) princípio(s) ativo(s). Assim, adicionalmente, os compostos ativos presentes nos QTPV apresentam mecanismo de liberação modificada, sem que haja a redução ou inativação da atividade do composto ativo em questão, presentes na própolis vermelha.

[0056] Além do objetivo já destacado de propor um produto microencapsulados de própolis vermelha (QTPV) de liberação modificada à base da própolis vermelha contendo quitosana e aerossil, a presente invenção propõe uma metodologia para a obtenção desses microencapsulados, composições farmacêuticas contendo os mesmos,

processos de obtenção das composições farmacêuticas e os usos para tais produtos com base na própolis vermelha.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0057] A presente invenção apresenta as microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana (QTPV) um tipo de microencapsulados de liberação modificada de própolis vermelha, compostos por tintura hidroalcoólica padronizada de própolis vermelha proveniente do extrato bioativo, espessante e ou gelificante e um promotor de fluidez. Tal sistema dispersante é composto por sistema binário (dois excipientes de revestimento), que, devido a sua composição permite a liberação modificada do princípio ativo. A invenção trata também do processo de obtenção dos QTPVs, por meio da técnica de *Spray-Dryer*. Adicionalmente, apresenta-se modalidade de invenção em termos de composição contendo os microencapsulados em formulações sólidas, preferencialmente, na forma de cápsulas gelatinosas duras de liberação modificada. A composição revelada compreende i) um núcleo contendo substância(s) ativa(s) de própolis vermelha combinado com excipientes farmacêuticos; (ii) uma camada intermediária de revestimento do núcleo que pode modificar ou retardar a liberação da(s) substância(s) ativa(s) contidas no núcleo; (iii) uma camada externa responsável pelos processos lubrificação e fluidez e desagregação/dissolução da camada intermediária e núcleo interno. Por fim, são apresentados usos para os de liberação modificada de própolis vermelha e para as composições em questão.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS/DESENHOS

[0058] A modalidade da invenção, juntamente com vantagens adicionais da mesma podem ser melhor explanadas e compreendidas mediante referência aos desenhos em anexo e a seguinte descrição:

[0059] A **Figura 1** anexa apresenta um termograma da Análise Térmica Diferencial (DTA) para as composições estudadas de QTPV.

[0060] A **Figura 2** anexa apresenta um espectro de Infravermelho com transformada de Fourier acoplada sonda de Reflectância Total Atenuada (FTIR-ATR) para algumas composições estudadas de QTPV.

[0061] A **Figura 3** anexa apresenta a Fotomicroscopia de Varredura Eletrônica (MEV) de QTPV-16%, QTPV-25, QTPV-35, QTPV-45, QTPV-50 e QTPV-75 carregadas com extrato da própolis vermelha de Alagoas. Fotomicrografias QTPV-16%, QTPV-25, QTPV-35, QTPV-45 com ampliação de 1000 vezes (escala 10µm), Fotomicrografia QTPV-50 com aplicação de 800 vezes (escala 10µm) e Fotomicrografia QTPV-75 com ampliação de 1500 vezes (escala 10µm).

[0062] A **Figura 4** anexa apresenta gráfico de perfil de dissolução para algumas composições de QTPV por um período de 6 horas. O perfil de dissolução de QTPV-35, QTPV-50 e QTPV-75 foram realizados usando meio de dissolução HCL 0,1M por período de 2 horas, seguido por meio de dissolução Tampão fosfato pH 7,4 por um período de 4 horas.

[0063] A **Figura 5** anexa apresenta halos de inibição em placa de petri da tintura padronizada de própolis vermelha e das microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana QTPV-75 em diferentes diluições frente a cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

[0064] DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[0065] Os produtos, processos e usos descritos na presente invenção podem ser melhor detalhados e compreendidos mediante referência às figuras presentes neste documento e a seguinte descrição:

Microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana (QTPV)

[0066] Os microencapsulados apresentados no presente documento apresentam concentrações de flavonoides, isoflavonóides, chalconas e ácidos fenólicos diferenciadas devido à especificidade da própolis vermelha. Ainda, os microencapsulados são aqui também chamados de quitosinatos de própolis vermelha (QTPV). Adicionalmente, os microencapsulados em questão apresentam importante característica de liberação modificada dos ativos, retardando a liberação dos compostos atuantes, para uma ação de maior duração, além de manutenção dos princípios ativos por mais tempo para ação nos órgãos específicos.

[0067] Os QTPV, além da tintura com os princípios ativos de interesse, obtidos da própolis vermelha, apresentam em sua formulação os excipientes farmacêuticos com diferentes funcionalidades sendo eles: composto ativo (tintura), encapsulante de liberação modificada e promotor de fluidez/antiaderência.

[0068] Em uma modalidade da presente invenção, um microencapsulado de liberação modificada QTPV apresenta-se uma composição de: tintura hidroalcoólica padronizada de própolis vermelha proveniente do extrato bioativo em proporção entre 5 a 95%, preferencialmente entre 16 e 75%; emulsificante e ou gelificante em proporção entre 23 e 78%; e promotor de fluidez em proporção entre 0,01 e 6%.

[0069] Em uma outra modalidade da presente invenção, um microencapsulado de liberação modificada QTPV-16, apresenta-se uma composição de: tintura hidroalcoólica padronizada de própolis vermelha proveniente do extrato bioativo em proporção entre 5 a 95%, preferivelmente entre 10 e 20%; encapsulante de liberação modificada em proporção entre 70 a 85%, e promotor de fluidez em proporção entre 0,01 e 10%.

[0070] Outra modalidade da invenção proposta, um microencapsulado QTPV-25, apresenta-se a seguinte composição: tintura hidroalcoólica padronizada proveniente do extrato bioativo em proporção entre 5 a 95%, preferivelmente entre 20 e 30%; encapsulante de liberação modificada em proporção entre 60 a 80%, e um promotor de fluidez em proporção entre 0,01 e 10%.

[0071] Outra modalidade da invenção proposta, um microencapsulado QTPV-35, apresenta-se a seguinte composição: tintura hidroalcoólica padronizada proveniente do extrato bioativo em proporção entre 5 a 95%, preferivelmente entre 30 e 40%; encapsulante de liberação modificada em proporção entre 55 a 65%, e um promotor de fluidez em proporção entre 0,01 e 10%.

[0072] Outra modalidade da invenção proposta, um microencapsulado QTPV-45, apresenta-se a seguinte composição: tintura hidroalcoólica padronizada proveniente do extrato bioativo em proporção entre 5 a 95%, preferivelmente entre 40 e 50%; encapsulante de liberação controlada em proporção entre 45 a 55%, e um promotor de fluidez em proporção entre 0,01 e 10%.

[0073] Outra modalidade da invenção proposta, um microencapsulado QTPV-50, apresenta-se a seguinte composição: tintura hidroalcoólica padronizada proveniente do extrato bioativo em proporção entre 5 a 95%, preferivelmente entre 40 e 60%; encapsulante de liberação controlada em proporção entre 40 a 60%, e um promotor de fluidez em proporção entre 0,01 e 10%.

[0074] Outra modalidade da invenção proposta, um microencapsulado QTPV-75, apresenta-se a seguinte composição: tintura hidroalcoólica padronizada proveniente do extrato bioativo em proporção entre 5 a 95%, preferivelmente entre 60 e 90%; encapsulante de liberação controlada em proporção entre 15 a 35%, e um promotor de fluidez em proporção entre 0,01 e 10%.

[0075] Nas modalidades da invenção, as microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana (QTPV), o sistema encapsulante é caracterizado por ser um sistema binário que promove a emulsificação pelo método de gelificação, composto apenas por quitosana adicionado de dióxido de silício coloidal (aerosil) como agente de fluidez.

[0076] Os microencapsulados de liberação modificada aqui chamados de microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana (QTPV-16, QTPV-25, QTPV-35, QTPV-45, QTPV-50, QTPV-75), por consistir de excipientes como quitosana no sistema ternário de emulsificação além de conferir liberação modificada ao microencapsulado ela também protege os flavonoides do extrato de própolis vermelha contra ação da luz reduzindo a processos de fotodegradação. O uso de aerosil na composição gera propriedades antiaderentes e também promove a fluidez dos pós durante etapa de produção de cápsulas gelatinosa dura.

[0077] Ainda, é importante destacar que, as microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana propostos no presente documento apresentam-se inovadores podendo ser utilizados como nutracêuticos bem como medicamentos para reduzir a obesidade e também no tratamento doenças do trato gastro-intestinal como inibir o *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, bactérias patogênicas, e terapia complementar de tratamento do câncer.

Processo de obtenção de QTPV

[0078] As etapas de obtenção de QTPV incluem a preparação do sistema de emulsificação por gelificação contendo tintura de própolis vermelha e encapsulante de liberação modificada e e agente promotor de fluidez, secagem do sistema encapsulante contendo tintura de própolis vermelha, formando as microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana (QTPV).

- Preparação do Extrato Bruto de Própolis Vermelha

[0079] Uma amostra de 150 g de própolis é submetida a processo de extração por maceração em 400 a 750 mL de álcool 60 a 90 °GL, preferivelmente entre 70 a 85 °GL, por período de 12 a 48 horas. O processo de extração é repetido até completa extração das substâncias ativas.

[0080] Após a completa extração das substâncias ativas, o material é concentrado em rotaevaporador, acoplado a uma bomba de vácuo, usando uma velocidade de rotação de 20 a 120 rpm, em banho-maria em faixa de temperatura de 35 a 55°C e pressão entre 400 a 700 mmHg.

[0081] Uma massa sólida escura será obtida com percentagem de solvente entre 2 a 35%, sendo denominado extrato bruto de própolis vermelha, livre de ceras. O extrato bruto, preferivelmente, deverá apresenta percentagem de solvente entre 2 a 6%.

[0082] Um rendimento entre 50 a 75% será obtido durante o processo de extração por maceração, preferivelmente o rendimento do extrato bruto de própolis vermelha compreende uma faixa de 60 a 70%.

[0083] Uma grande vantagem do extrato bruto aqui proposto, para a elaboração dos QTPV é que o mesmo é obtido diretamente com etanol sem a presença de solventes tóxicos ou nocivos a saúde humana e sem utilizar etapa de lavagem do extrato.

- Obtenção da tintura hidroalcoólica padronizada

[0084] O extrato bruto de própolis vermelha (4,00 a 18,75g) com a mínima percentagem de solvente (2 a 6%) é utilizado para preparação de tintura hidroalcoólica padronizada de própolis vermelha em concentração entre 5% a 30% (p/v), preferencialmente entre 10 e 30% (p/v) e mais preferencialmente entre 15 e 25% (p/v), utilizando

sistema de solvente etanol:água destilada (60:40, v/v) ou (70:30, v/v) ou (80:20, v/v) ou (90:10, v/v), ou (95:05, v/v), ou (99:01, v/v) preferivelmente entre (70:30, v/v) ou (96:04, v/v), com auxílio de agitação em banho ultrassônico por 20 minutos até completa solubilização. Nenhuma precipitação é observada após período superior a 24 horas.

- Preparação do sistema de emulsificação por gelificação da quitosana contendo tintura de própolis vermelha

[0085] Para preparação do sistema emulsificante contendo tintura de própolis vermelha são utilizados os excipientes farmacêuticos usuais com diferentes funcionalidades sendo eles: composto ativo (tintura hidroalcoólica padronizada), espessantes/gelificantes com função dispersante / emulsificante e promotor de fluidez / antiaderência.

[0086] Para preparação do sistema emulsificante contendo tintura de própolis vermelha, uma proporção entre 5 e 30% da tintura hidroalcoólica padronizada de própolis vermelha, preferencialmente entre 15 a 25% é utilizada. Esta tintura é reservada para posterior incorporação ao sistema de emulsificação por gelificação da quitosana.

[0087] O adjuvante de encapsulação (5,00 a 19,75g) para a preparação do sistema emulsivo de QTPV contendo tintura de própolis vermelha são adicionados em um recipiente contendo 350 mL de água destilada acidificada com 0,04% de ácido fórmico (v/v) para preparar o gel de quitosana.

[0088] Em seguida, o recipiente contendo a quitosana em água acidificada é transferida para um banho ultrassônico para auxiliar o processo de gelificação da quitosana. O processo de sonicação e agitação constante com auxílio de bastão de vidro dura em média 20 a 30 minutos. Posteriormente, a tintura hidroalcoólica padronizada

de própolis vermelha preferencialmente entre 15 a 25% em volume de 200 a 250 mL é incorporada ao sistema gelificante, seguido pela adição de 250 mL de álcool etílico 96°GL, sob agitação constante, seguido pela adição de aerosil numa proporção final entre 3 a 8%, preferencialmente entre 4 a 6 %.

[0089] O sistema se mantém sob agitação até o processo final de secagem utilizando o spray-dryer. A percentagem de álcool etílico é equilibrada ao sistema para que a mesma apresente uma quantidade de solvente etanol:água (10:90, v/v) ou (20:80, v/v) ou (30:70, v/v) ou (40:60, v/v) ou (50:50, v/v) ou (60:40, v/v) ou (70:30, v/v) ou (80:20, v/v), preferivelmente entre 20 a 55°GL e mais preferivelmente de 45°GL contendo os adjuvantes em temperatura entre 25 e 55°C e preferencialmente entre 30 e 45°C.

[0090] O sistema emulsificante ou dispersante preparado pela técnica de gelificação é composto por sistema binário (quitosana) além de agente fluidificante (aerosil) que se mantém como sistema disperso instável com decantação na ausência de agitação. O sistema binário composto por quitosana e aerosil conferem a composição a propriedade de liberação modificada. Utilizando este processo de preparação foram realizadas as preparações das composições QTPV-75 (microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana contendo 75% de tintura padronizada de própolis vermelha), QTPV-50 (microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana contendo 50% de tintura padronizada de própolis vermelha), QTPV-45 (microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana contendo 45% de tintura padronizada de própolis vermelha), QTPV-35 (microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana contendo 35% de tintura padronizada de própolis vermelha), QTPV-25 (microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana contendo 25% de tintura padronizada de própolis vermelha) e QTPV-

16 (microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana contendo 16% de tintura padronizada de própolis vermelha).

[0091] É importante destacar a importante função da quitosana em promover a completa dispersão do extrato de própolis vermelha no sistema emulsificante obtido por gelificação.

[0092] A moderada viscosidade da quitosana permite que o extrato de própolis vermelha se mantenha estável no sistema gelificante sob agitação.

[0093] O aerosil apresentou boa compatibilidade promovendo a dispersão e fluidez durante processo de secagem.

- Secagem do sistema de emulsificação obtido por gelificação contendo tintura de própolis vermelha

[0094] Os sistemas emulsificante obtidos por gelificação contendo tintura de própolis vermelha, são então submetidos a processo de secagem em *Spray-Dryer* sob agitação constante, usando agulha injetora de 1 mm. O *Spray-Dryer* apresenta as seguintes condições de secagem: temperatura de entrada 160 a 180°C, temperatura de saída 100 a 130°C, fluxo de bombeamento 0,3 L/h e vazão de ar de 4,50 Litros.

[0095] Desta forma, são obtidos pós do sistema emulsificante preparados por gelificação contendo microencapsulados de própolis vermelha e estes pós são ditos quitosinatos de liberação modificada de própolis vermelha. Os sistemas emulsificantes obtidos pela técnica de gelificação contendo tintura de própolis vermelha, após processo de secagem em *Spray-Dryer* gera os QTPV-75, QTPV-50, QTPV-45, QTPV-35, QTPV-25 QTPV-16.

[0096] É importante destacar que, o processo de obtenção de sistema emulsificante contendo quitosana e outro excipiente (aerosil)

formando sistema binário aqui proposto para a preparação dos microencapsulados resultará em sistema de liberação modificado que se obtém a temperatura ambiente pelo método de emulsificação por gelificação. Ainda, o processo de preparação por emulsificação dos microencapsulados a base de quitosana apresentam como características: retardo na liberação dos flavonoides / isoflavonóides presentes no extrato padronizado de própolis vermelha na percentagem entre 30 a 100%, e, preferivelmente entre 35 e 92% num período de 6 horas.

Composições farmacêuticas contendo QTPV

[0097] Os QTPV obtidos podem ser utilizados em diversas composições farmacêuticas, preferencialmente como formulações sólidas, como pós, comprimidos, cápsulas gelatinosas, dentre outras.

[0098] As composições farmacêuticas propostas no presente documento consistem em composições, preferencialmente na forma de cápsulas duras ou comprimidos, que apresentam i) um núcleo contendo substância(s) ativa(s) de própolis vermelha combinado com excipientes farmacêuticos; ii) uma camada intermediária de revestimento do núcleo que pode retardar a liberação das substância(s) ativa(s) contidas no núcleo; iii) uma camada externa responsável pelos processos lubrificação, diluição, fluidez, molhabilidade e desagregação/dissolução da camada intermediária e núcleo interno.

[0099] É importante destacar que, nas composições farmacêuticas aqui propostas os QTPV constituem o núcleo (i), com os elementos ativos da tintura de própolis vermelha, e a camada intermediária (ii), composta dos sistemas binário ou ternário constituintes dos QTPV e adjuvantes de desintegração de comprimidos ou cápsulas.

[00100] Em se tratando do núcleo dessas composições farmacêuticas, o mesmo é formado por substâncias ativas da tintura padronizada da própolis vermelha, que estão presentes nos QTPV.

[00101] A camada intermediária de revestimento do núcleo consiste de um polímero hidrofílico natural ou combinação de mais de um polímero(s) hidrofílico(s) natura(is). Em uma modalidade distinta da invenção, a camada intermediária pode ser preparada também pela conjugação entre um ou mais polímero(s) hidrofílico(s) natural(is) e um ou mais polímero(s) hidrofílico(s) sintético(s). Com relação aos excipientes farmacêuticos auxiliares, como os agentes promotores de fluidez e antiaderência, aglutinantes e diluentes, utilizados na camada intermediária, estes deverão constar na camada intermediária com percentagens variáveis entre 0,05% e 95% de acordo com a sua funcionalidade na matriz farmacêutica.

[00102] Em termos de proporção da camada intermediária na composição farmacêutica final, a camada intermediária de revestimento do núcleo deve apresentar percentagens entre 5% e 95%, e preferencialmente entre 5 e 50% em relação ao peso total da composição.

[00103] Já a camada externa da composição consiste de excipientes farmacêuticos com diversas funcionalidades, dentre eles citamos diluentes, lubrificantes, agentes promotores da fluidez, molhantes, desintegrantes, super-desintegrantes, cuja dissolução da composição é promovida pelo contato dos líquidos do trato gastro-intestinal (TGI) com as micropartículas de liberação modificada.

[00104] O mecanismo de liberação modificada acontece quando o sistema matricial composto por quitosana e aerosil entram em contato com os líquidos do TGI promovendo a formação de gel pouco

entumescível em que estão contidas as substâncias bioativas (flavonoides e isoflavonóides), as quais irão ser liberados desta rede gelificante de forma retardada devido as propriedades físico química da quitosana com propriedade de formação de gel hidrofílicos, pouco viscoso (não formam géis verdadeiros), em qual concentração ou temperatura e com cinética de liberação de ordem zero (comportamento de liberação linear) com mecanismo de liberação por difusão seguido por liberação por erosão dos constituintes ativos.

[00105] Outros fatores com a liberação das substâncias ativas destas matrizes de liberação como: ação de fatores fisiológicos do TGI como, líquidos circulante, variação de pH, peristaltismo, grau de ionização (solubilização) e/ou precipitação das substancias ativas, entre outros.

[00106] Em termos de porcentagens dos excipientes farmacêuticos na camada externa, estes podem representar entre 0,05% e 100% do peso total da camada externa, de acordo com a sua funcionalidade na matriz farmacêutica. Em termos de proporção da camada externa na composição farmacêutica final, a camada externa da composição deve apresentar porcentagens entre 0,01% e 50%, preferencialmente entre 1 e 15% em relação ao peso total da composição.

[00107] A composição farmacêutica aqui apresentada pode ou não apresentar invólucro de gelatina, formando cápsulas duras ou moles. Assim, em uma modalidade da invenção aqui proposta, podem-se obter cápsulas com invólucro de gelatina em tamanhos compreendidos entre 000 e 03 com coloração escura.

[00108] Ainda, os excipientes farmacêuticos utilizados na composição podem ser de diversos tipos e em formulações diversas, com composições variáveis entre os diversos tipos de excipientes. Entre os excipientes usados nas composições, têm-se polímeros

hidrofílicos naturais ou sintéticos como gelatina, amido de milho, amido pré-gelatinizado, gomas xantana, maltodextrina, pectina, estearato de magnésio, talco, dióxido de titânio, polivinilpirrolidone, carbômeros, carbapol, polivinil álcool, polaxâmeros, dióxido de silício coloidal, ácido esteárico, glicolato de amido sódico (explosol), laurilsulfato de sódio, celulose, celulose microcristalina, e derivados da celulose, como CMC, metilcelulose e hydroxipropiletilcelulose.

[00109] Processo de obtenção de composições farmacêuticas contendo QTPV

[00110] As etapas de obtenção de composições farmacêuticas contendo QTPV podem ser identificadas pelos seguintes passos principais: obtenção de microencapsulados de liberação modificada de própolis vermelha, realização de misturas físicas para garantir teor e uniformidade de conteúdo e preparação das cápsulas de própolis vermelha em invólucro de gelatina dura (**Figura 2**).

[00111] Os QTPV obtidos podem ser utilizados em diversas composições farmacêuticas, preferencialmente como formulações sólidas, como pós, comprimidos, cápsulas gelatinosas, dentre outras.

[00112] Preferencialmente, para a preparação de cápsulas gelatinosas duras contendo QTPV, os microencapsulados são submetidos a processo de determinação da uniformidade de conteúdo para avaliar as variações no teor dos microencapsulados em relação ao valor teórico. Em seguida, são submetidos a processo de mistura pelo método de diluição geométrica com os excipientes do tipo diluente em proporção entre 0,5 e 80% (preferivelmente entre 1 a 60%, e mais preferivelmente entre 1 a 50%) num tempo compreendido entre 5 e 120 minutos, mais preferivelmente entre 25 e 65 minutos. A mistura foi finalizada adicionando um excipiente tipo

lubrificante em proporção entre 0,1 e 6%, preferivelmente entre 0,3 a 4%; mais preferivelmente entre 0,25 e 1%, em um período de 2 a 10 minutos, mais preferivelmente entre 3 e 7 minutos.

[00113] A encapsulação pode ser realizada em instrumentos manuais (tablado para encapsulação), instrumentos semi-industriais e industriais, ajustando a massa do QTPV em termos da tintura padronizada de própolis vermelha. Variações entre 90 a 110% do teor da tintura padronizada de própolis vermelha. Variações entre 85 a 115% em termos de uniformidade de conteúdo da tintura padronizada de própolis vermelha. Variações entre 75 e 115% da percentagem de dissolução para os flavonoides majoritários da tintura padronizada de própolis vermelha.

Usos de QTPV e de composições farmacêuticas contendo os mesmos

[00114] Diante de tais atividades biológicas das microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana com liberação modificada, estes podem ser utilizados em uma ampla gama de setores industriais, como cosmético, farmacêutico, alimentício e veterinário.

[00115] A utilização da própolis como princípio ativo na prevenção e tratamento de diversas doenças já é amplamente descrito. Entretanto, a própolis vermelha apresenta composição diferenciada das demais própolis já amplamente descritas no estado da técnica, o que indica atividades fisiológicas variadas.

[00116] A própolis vermelha apresenta atividades biológicas antibacterianas para as cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, com inibição do crescimento bacteriano, quando submetido tanto à tintura da própolis vermelha, quanto aos microencapsulados de liberação modificada da própolis vermelha.

[00117] Devido à sua característica biológica comprovadamente antibacteriana, os microencapsulados de liberação modificada e composições farmacêuticas contendo microencapsulados de liberação modificada obtidos pelos processos propostos podem ser utilizados para: tratamento de infecções bacterianas de amplo espectro de ação, tratamento de diarreias causadas por bactérias com *Salmonella sp*, *E. coli*, bem como *S. aureus*, tratamento de estomatites, gastroenterites, enterites, enterocolites causadas por bactérias gram-positivas ou negativas de origem alimentar, tratamento de úlceras originadas de gastrites e enterites como a colite ulcerativa, enterites ulcerativas e estomatites ulcerativas, tratamento de úlceras periodontais e úlceras orais; tratamento de processos inflamatórios de origem bacteriana; tratamento de processos inflamatórios e infecciosos em geral. Tais usos para o produto aqui propostos, em termos de aplicação de microencapsulados de liberação controlada contendo própolis vermelha, apresentam-se como um diferencial frente ao já exposto pelo estado da técnica.

[00118] Assim, as modalidades da invenção descritas no presente documento apresentam-se como um avanço no estado da técnica já que, permitem a produção de QTPV e composições farmacêuticas contendo os mesmos de maneira economicamente viável. Desta forma, os QTPV obtidos através do processo proposto podem ser utilizados, isolada ou em composição com outros produtos, em diversos setores industriais, como alimentício, cosmético e farmacêutico.

EXEMPLOS

[00119] As avaliações dos QTPV obtidos utilizando o processo proposto demonstraram a obtenção de um produto adequado, puro e de atividade preservada. Os resultados obtidos estão representados nas figuras indicadas.

[00120] **EXEMPLO 1** - Termograma da Análise Térmica Diferencial (DTA) para as composições estudadas de QTPV.

[00121] Análise térmica foi realizada em equipamento Análise Termogravimétrica simultâneo com Análise Térmica Diferencial (TG/DTA Shimadzu DTG 60H) em atmosfera de ar sintético com fluxo 50mL/min, razão de aquecimento de 10°C/min. numa faixa de temperatura entre 30 a 900°C. Foram pesadas massas de (~10 mg +/- 10%) de cada amostra e transferida para um cadinho de alumínio.

[00122] As curvas DTA mostraram transições de fase para o excipiente quitosana entre 50 e 150°C (correspondente ao desprendimento de umidade e água de constituição), entre 200 e 600°C (correspondente à decomposição deste polímero natural). O extrato de própolis vermelha apresentou transição de fase em 100°C, bem como transições de fase entre 300 e 450°C (pico endotérmico de decomposição) e entre 450 e 600°C (pico exotérmico de decomposição). As composições de extrato de própolis e quitosana apresentaram perfil calorimétrico diferencial semelhante ao excipiente quitosana na faixa de temperatura entre 200 e 600°C e uma transição de fase entre 500 e 600° semelhante ao extrato de própolis vermelha.

[00123] Os dados mostraram perfis calorimétricos semelhantes entre o agente encapsulante de revestimento (quitosana) e extrato ativo de própolis vermelha sugerindo que os QTPVs apresentaram compatibilidade térmica e estabilidade térmica. Os dados também demonstram pelo processo de decomposição que os microencapsulados segue o perfil térmico de decomposição semelhante ao agente encapsulante (quitosana) sugerindo encapsulamento do extrato ativo de própolis vermelha pela quitosana (figura 1).

[00124] **EXEMPLO 2** - anexa apresenta um espectro de Infravermelho com transformada de Fourier acoplada sonda de Reflectância Total Atenuada (FTIR-ATR) para algumas composições estudadas de QTPV.

[00125] A amostra, previamente seca, foi misturada ao KBr e depois compressa em um "comprimido" utilizando-se uma prensa manual. As medidas foram feitas através de uma Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) Thermo Scientific, modelo Nicolet iS10, em modo Smart Omni- Transmission Infrared Fourier Transform Spectroscopy (SOSIFT). Utilizou-se a faixa de número de onda 4000 a 400 cm^{-1} por transmitância em percentagem que estão relacionados aos estiramentos na região do infravermelho próximo e número de scans de 32 a 64.

[00126] O espectro de infravermelho do extrato de própolis vermelha, mostra a presença da deformação axial -OH larga em 3336 cm^{-1} , hidroxila típica de fenóis, também apresentou a banda de absorção em 2970 cm^{-1} de CH_3 e CH_2 , em 2932 cm^{-1} referente à deformação axial de CH_3 e as bandas de absorção 1617 cm^{-1} , 1496 cm^{-1} e 1450 cm^{-1} decorrentes de $\text{C}=\text{C}$ de anéis aromáticos e em 1045 cm^{-1} houve a presença da banda intensa de deformação axial de C-O, a banda de absorção em 877 cm^{-1} mostrou a deformação angular C-H fora do plano característica de compostos aromáticos polinucleares.

[00127] A presença de aromáticos numa amostra é verificada pela existência de bandas mais importantes na região de baixa frequência entre 900 e 675 cm^{-1} .

[00128] As composições QTPV-16, QTPV-25, QTPV-35, QTPV45, QTPV50 e QTPV-75 apresentaram os mesmos estiramentos e deformações axiais e angulares característicos do agente encapsulante (quitosana). A caracterização na região do espectro de infravermelho da quitosana e dos microencapsulados mostraram bandas de absorção características em 3570 cm^{-1} para os grupos hidroxila, em 2925 a 2891 cm^{-1} para C-H de CH_2 , deformação angular de amina (~1580 cm^{-1}) deformação angular em 1379 cm^{-1} para a deformação angular simétrica de CH_3 , deformação 1047 cm^{-1} para C-O-C de éter (figura 2).

[00129] Estiramentos na região de 1617 cm^{-1} , 1496 cm^{-1} e 1450 cm^{-1} decorrentes de C=C de anéis aromáticos foram ocultados o que também demonstra por esta técnica a microencapsulação do extrato de própolis vermelha pelo agente encapsulante quitosana (figura 2).

[00130] **EXEMPLO 3** - Ensaaios de microscopia eletrônica de varredura das microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana com liberação modificada (QTPV-16, QTPV-25, QTPV-35, QTPV-45, QTPV-50 e QTPV-75 carregadas com extrato da própolis vermelha de Alagoas).

[00131] A morfologia dos quitosinatos de própolis vermelha obtidos por *Spray-Dryer* (QTPV) foram avaliados com um microscópio eletrônico de varredura (MEV).

[00132] Os pós foram fixados a uma fita adesiva dupla-face, em seguida foram metalizados com 3 minutos em platina e 5 minutos em ouro usando um metalizador Sanyu Electron, modelo Quick Coater SC-701, usando corrente de 10mA, sob vácuo. As amostras foram analisadas com um microscópio eletrônico de varredura, Shimadzu, modelo SXX-550 Superscan (Tóquio, Japão) operado a 15 kV amplificação de até 1500 vezes.

[00133] O ensaio de microscopia eletrônica de varredura foi utilizado para comprovar que as micropartículas dos chamados quitosinatos de própolis vermelha obtidas por *Spray-Dryer* também chamadas de microesferas ou também chamados de microencapsulados. Os resultados mostram que as partículas em modelo bimodal a polimodal que apresentam tamanho entre $5\text{ }\mu\text{m}$ e $28\text{ }\mu\text{m}$, esféricas, ausência de fissuras ou porosidades, lisas e uniformes indicando formação de filme contínuo na parede externa. Na formulação QTPV75, que possuía a maior concentração de própolis (75%), foi observada a presença de partículas de conformação mais irregular e agregadas,

talvez pela maior proporção de umidade absorvida pela amostra (**Figura 3**).

[00134] **Exemplo 4** - anexa apresenta gráfico de perfil de dissolução para algumas composições de QTPV por um período de 6 horas.

[00135] Os testes de dissolução foram realizados utilizando o dissolutor Erweka DT 80 a 100rpm a 37°C em três amostras (QTPV35%, 50% e 75%), em meios: ácido simulando o pH estomacal e básico simulando o comportamento intestinal. Os perfis de dissolução foram obtidos a partir da análise em espectrofotômetro UV-mini 1240 Shimadzu. Os tempos de coleta foram de 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h de dissolução, no qual coletou-se 5 mL do meio de dissolução com reposição e, em seguida, as amostras foram filtradas em papel de filtro analítico. As amostras filtradas foram analisadas em espectrofotômetro UV-vis em comprimento de onda de 280nm. A curva de calibração foi realizada com o extrato de própolis utilizado para obtenção dos microencapsulados na faixa de concentração de 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 µg/mL.

[00136] O perfil de dissolução de QTPV-35, QTPV-50 e QTPV-75 foram realizados usando meio de dissolução Tampão fosfato pH 7,4 por um período de 6 horas (primeira condição de simulação).

[00137] Os perfis de dissolução das composições QTPV50 e QTPV75 em tampão fosfato pH 7,4 por 360min e comparados com o perfil obtido da composição QTPV35 34,62%± 1,12. Observou-se que em tampão fosfato pH 7,4, a formulação QTPV50 se dissolveu pobremente, atingindo um pouco mais de 28,25%± 1,59 de dissolução em 360 minutos e QTPV75 se dissolveu 36,58% ± 7,86 em 360 minutos.

[00138] O perfil de dissolução de QTPV-35, QTPV-50 e QTPV-75 foram realizados usando meio de dissolução HCL 0,1M por período de 2 horas, seguido por meio de dissolução Tampão fosfato pH 7,4 por

um período de 4 horas (segunda condição de simulação). Na segunda condição, após 120min em HCl, pudemos observar que a formulação QTPV50 ($40,95\% \pm 2,05$) se dissolveu melhor em relação à QTPV35 ($35,83\% \pm 1,26$). QTPV50 apresentou dissolução de aproximadamente $67,84\% \pm 3,20$ de dissolução, enquanto QTPV35 mostrou ($48,08\% \pm 0,50$) no final de 360 minutos. A composição QTPV75 demonstrou uma dissolução de $64,86\% \pm 6,06$ em 2 horas em HCl e dissolução de $88,29\% \pm 4,33$ em tampão fosfato pH 7,4 após 360 minutos de dissolução.

[00139] A maior dissolução da formulação QTPV75 se deve ao fato de ter havido menor encapsulação da própolis, se comparada às demais formulações. Dessa forma, havia mais própolis livre que, conseqüentemente, se dissolveu em maior proporção. Os dados de dissolução demonstram que as composições QTPV são dependentes do pH do meio e da concentração de extrato de própolis. Pelos perfis de dissolução gradual obtidos pode-se observar também que estas composições são de liberação modificada.

[00140] O sistema matricial de quitosana está atuando como um sistema reservatório dos flavonoides que libera de forma gradual e que mantém a concentração de flavonoides constante ao longo do tempo.

[00141] **Exemplo 5** Ensaio de atividade antimicrobiana da tintura padronizada de própolis vermelha e das microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana com liberação modificada QTPV-75 em diferentes diluições frente a cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

[00142] Para as análises foram utilizadas as seguintes cepas bacterianas: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pelo método de difusão em ágar.

[00143] Foi realizado ensaio de atividade antimicrobiana para a tintura padronizada de própolis vermelha (**Figura 5 A e B**) e para

microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana com liberação modificada QTPV-75 após processo de secagem por spray-dryer com o intuito de averiguar se houve perda da atividade biológica após o processamento (**Figuras 5 C, D, E e F**). Os resultados mostraram formação de halo de inibição maior que 12 mm de diâmetro para as concentrações maiores 300 µg/poço e halos de 8mm de diâmetro em concentrações entre 50 a 200 µg/poço o que demonstra atividade antimicrobiana para a tintura e para a microcápsulas de própolis vermelha complexada com quitosana com liberação modificada estudada.

polivinilpirrolidone, carbômeros, carbapol, polivinil álcool, polaxâmeros, dióxido de silício coloidal, ácido esteárico, glicolato de amido sódico (explosol), laurilsulfato de sódio, celulose, celulose microcristalina, e os derivados da celulose, carboximetilcelulose, metilcelulose e hydroxipropiletilcelulose.

7. Composição de microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana, conforme reivindicação 6, caracterizada por compreender uma camada intermediária (ii) composta por excipientes farmacêuticos, preferencialmente agentes espessantes e gelificantes, promotores de fluidez e antiaderência, na porcentagem entre 0,05% e 95% do peso total da camada intermediária, de acordo com a funcionalidade do excipiente farmacêutico na matriz farmacêutica e, apresentar proporção entre 5% e 95%, preferencialmente entre 5 e 50%, em relação ao peso total da composição.

RESUMO

“MICROCÁPSULAS DE PRÓPOLIS VERMELHA COMPLEXADAS COM QUITOSANA,
PROCESSO DE OBTENÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE PRÓPOLIS VERMELHA
COMPLEXADAS COM QUITOSANA E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO
AS MESMAS”

A presente invenção apresenta microencapsulados de liberação modificada de própolis vermelha, também chamados microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana compostos por tintura hidroalcóolica padronizada de própolis vermelha proveniente do extrato bioativo, espessante e ou gelificante com função dispersante e ou emulsificante, diluente e promotor de fluidez. Tal sistema dispersante é composto por sistema binário, que, devido a sua composição permite a liberação modificada do princípio ativo. A invenção trata também do processo de obtenção das microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana com liberação modificada, por meio da técnica de Spray-Dryer. Adicionalmente, apresenta-se modalidade de invenção em termos de composição contendo as microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana em formulações sólidas, preferencialmente, na forma de cápsulas gelatinosas duras de liberação modificada. Ainda, a invenção trata do processo de preparação da composição, pela comprovação da obtenção de microcápsulas em tamanho micrométrico e com perfil de dissolução de liberação modificada entre 35 e 90 % no período de 6 horas. Por fim, são apresentados usos para as microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana e para as composições em questão.

RESUMO DA PATENTE DE INVENÇÃO

**“MICROCÁPSULAS DE PRÓPOLIS VERMELHA COMPLEXADAS COM QUITOSANA,
PROCESSO DE OBTENÇÃO DE MICROCÁPSULAS DE PRÓPOLIS VERMELHA
COMPLEXADAS COM QUITOSANA E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO
AS MESMAS”**

A presente invenção apresenta microencapsulados de liberação modificada de própolis vermelha, também chamados microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana compostos por tintura hidroalcóolica padronizada de própolis vermelha proveniente do extrato bioativo, espessante e ou gelificante com função dispersante e ou emulsificante, diluente e promotor de fluidez. Tal sistema dispersante é composto por sistema binário, que, devido a sua composição permite a liberação modificada do princípio ativo. A invenção trata também do processo de obtenção das microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana com liberação modificada, por meio da técnica de Spray-Dryer. Adicionalmente, apresenta-se modalidade de invenção em termos de composição contendo as microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana em formulações sólidas, preferencialmente, na forma de cápsulas gelatinosas duras de liberação modificada. Ainda, a invenção trata do processo de preparação da composição, pela comprovação da obtenção de microcápsulas em tamanho micrométrico e com perfil de dissolução de liberação modificada entre 35 e 90 % no período de 6 horas. Por fim, são apresentados usos para as microcápsulas de própolis vermelha complexadas com quitosana e para as composições em questão.

DESENHOS

FIG. 1

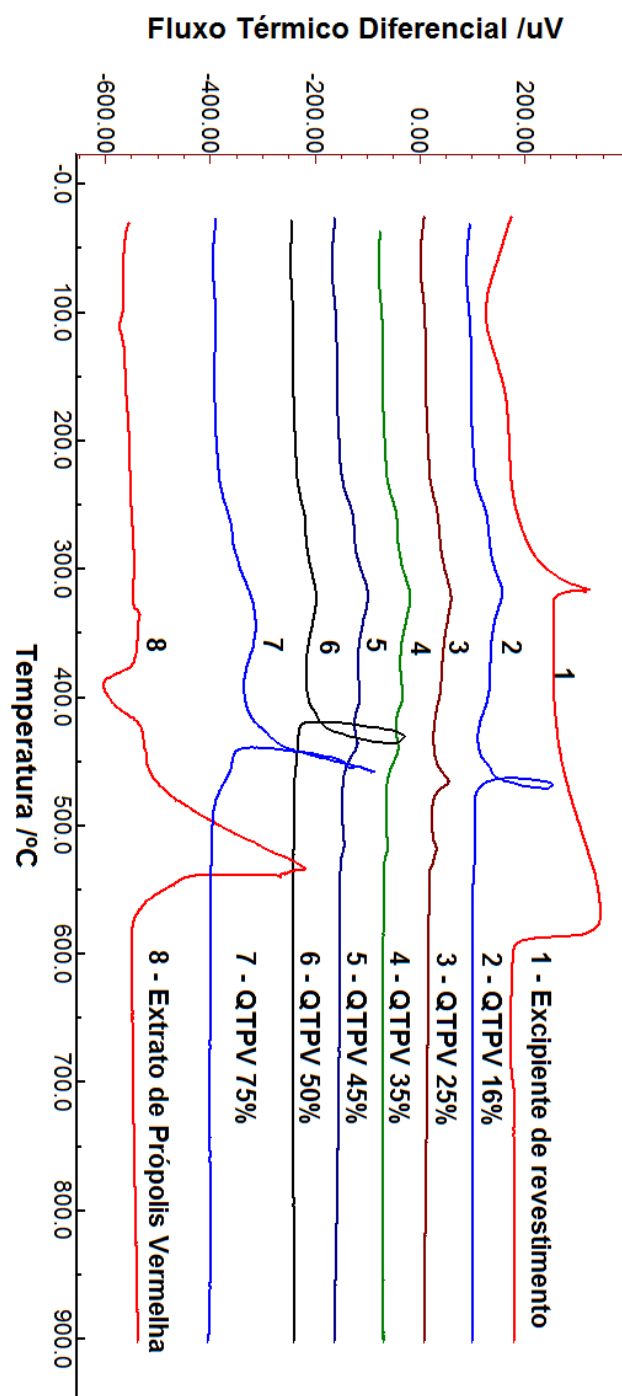


FIG. 2

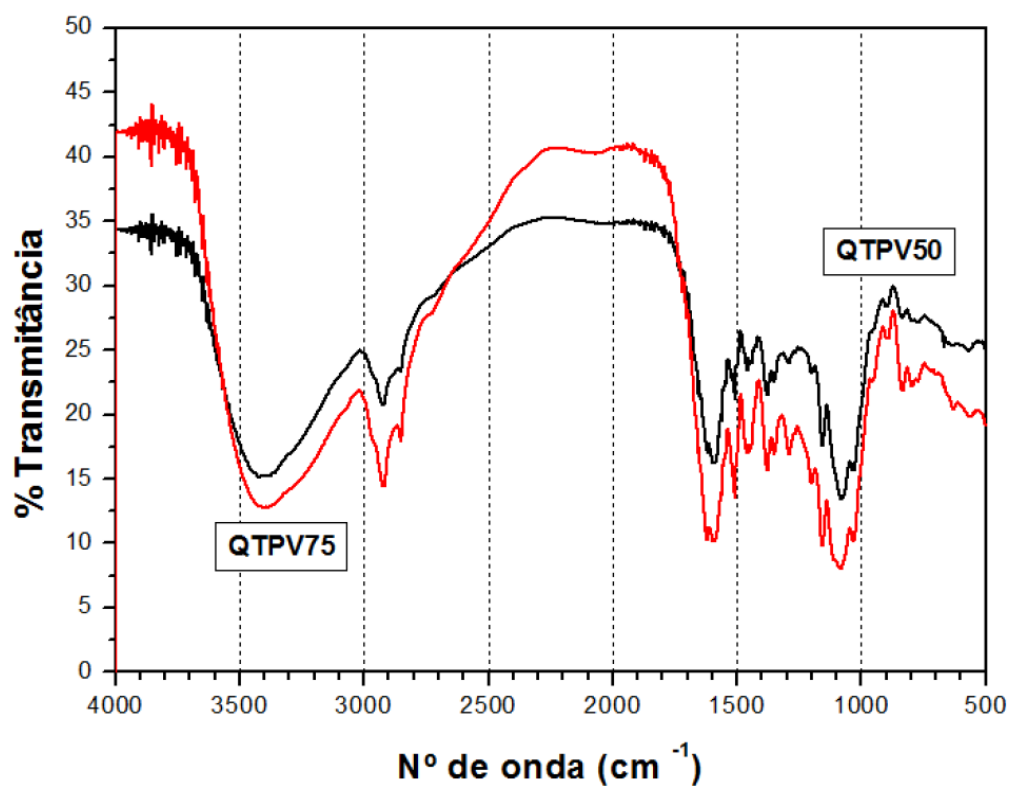
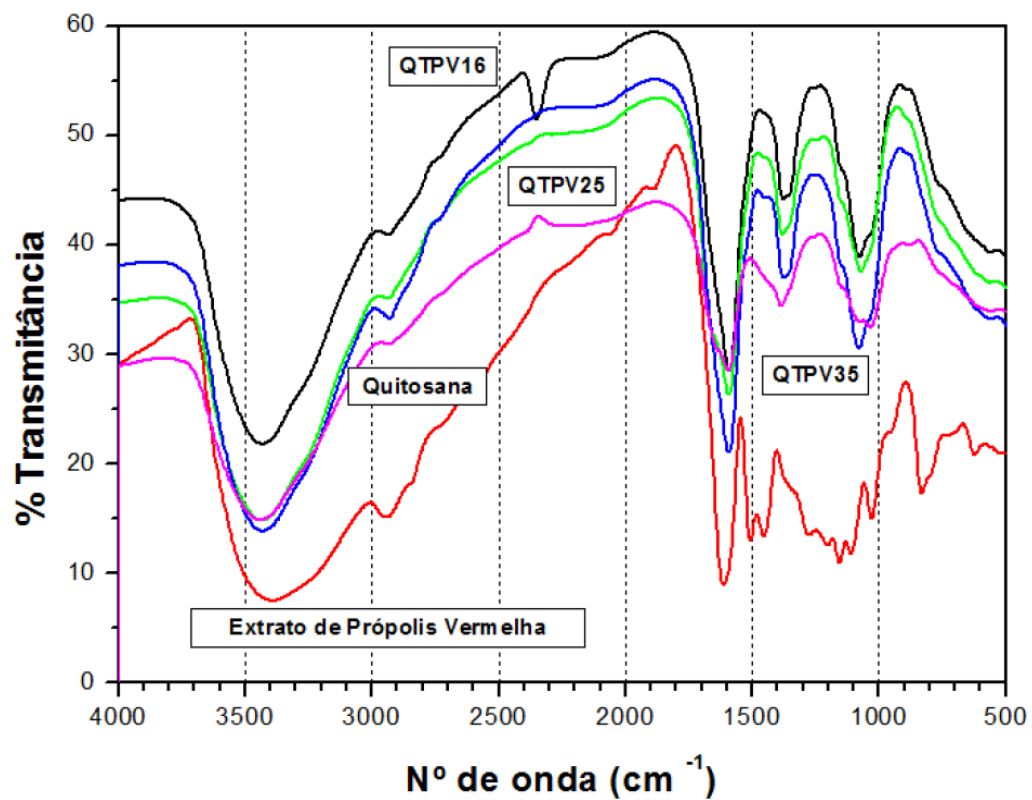


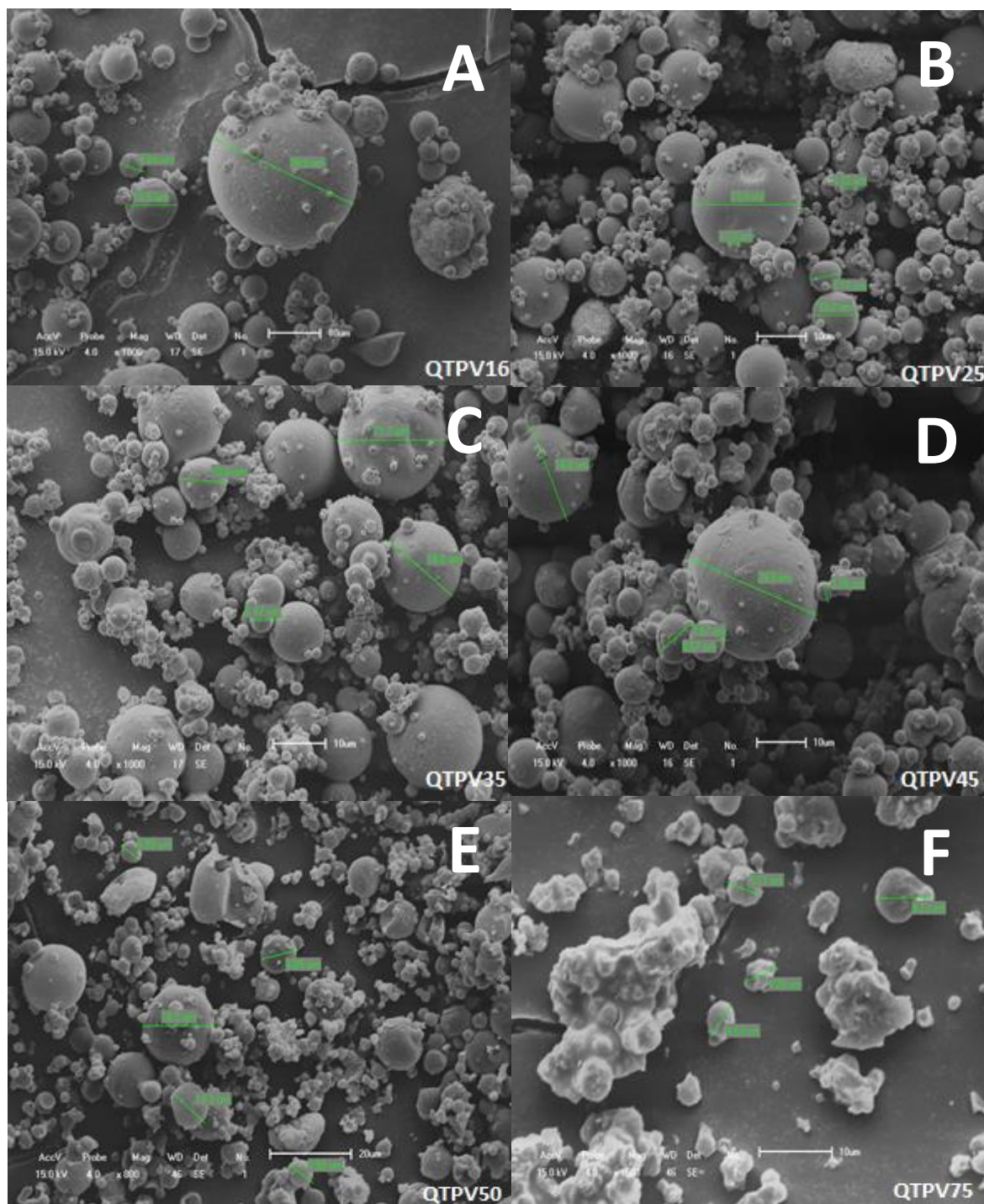
FIG. 3

FIG. 4

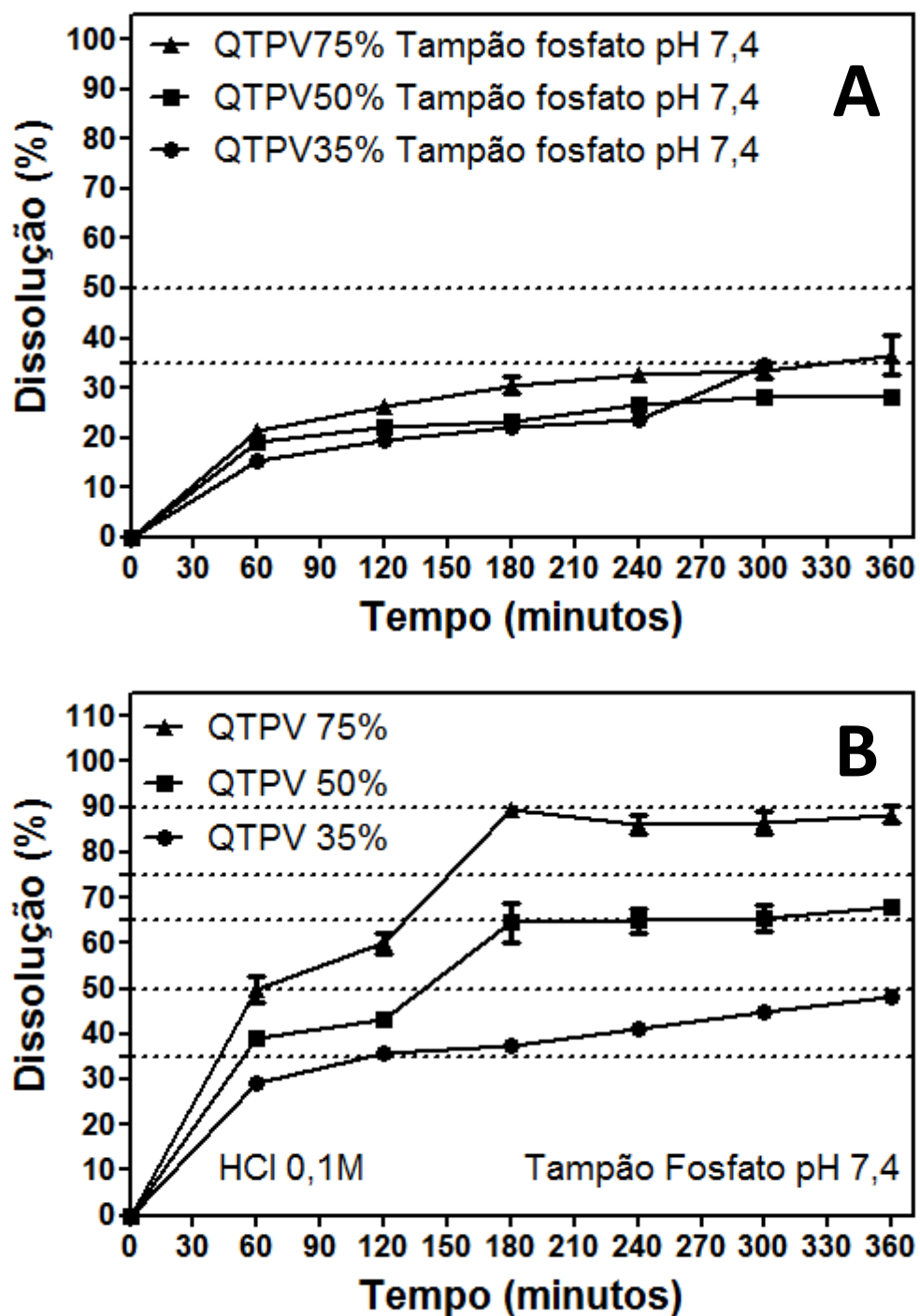


FIG. 5