



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

**(21) BR 102019008907-5 A2**



**(22) Data do Depósito: 02/05/2019**

**(43) Data da Publicação Nacional: 10/11/2020**

---

**(54) Título:** COMPLEXO DE INCLUSÃO LIOFILIZADO CONTENDO EPIISOPILOTURINA E CICLODEXTRINA PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS NEGLIGENCIADAS

**(51) Int. Cl.:** A61K 47/69; A61K 31/724; A61K 47/40; A61K 36/75; A61K 47/50; (...).

**(52) CPC:** A61K 47/6951; A61K 31/724; A61K 47/40; A61K 36/75; A61K 47/50; (...).

**(71) Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO; UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO.

**(72) Inventor(es):** PEDRO JOSÉ ROLIM NETO; CYBELLY MARQUES DE MELO; KAROLYNNE RODRIGUES DE MELO; ANDRÉA LUCIANA DA SILVA; LARISSA ARAÚJO ROLIM; MARIA JOANELLYS DOS SANTOS LIMA; ROSALI MARIA FERREIRA DA SILVA; AMANDA CARLA QUINTAS DE MEDEIROS VIEIRA.

**(57) Resumo:** COMPLEXO DE INCLUSÃO LIOFILIZADO CONTENDO EPIISOPILOTURINA E CICLODEXTRINA PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS NEGLIGENCIADAS. A presente patente de invenção refere-se ao complexo de inclusão liofilizado contendo episopiloturina e ciclodextrina para o tratamento de doenças negligenciadas. Este complexo contém como solvente a água destilada. Para obtenção do complexo de inclusão, foi utilizada a técnica de liofilização. Os resultados obtidos confirmaram a formação do complexo de inclusão desejado, apresentando um incremento na solubilidade aquosa da episopiloturina. Trata-se de uma matéria-prima inovadora, destinada ao tratamento de doenças negligenciadas.

## COMPLEXO DE INCLUSÃO LIOFILIZADO CONTENDO EPIISOPILOTURINA E CICLODEXTRINA PARA O TRATAMENTO DE DOENÇAS NEGLIGENCIADAS

01. A presente patente de invenção refere-se ao complexo de inclusão liofilizado contendo episopiloturina e ciclodextrina para o tratamento de doenças negligenciadas.

02. A epiisopiloturina (EPI) foi extraída e isolada pela indústria Anidro do Brasil Extrações S.A., situada na Parnaíba (PI). A Hidroxi-Propil- $\beta$ -Ciclodextrina (HB $\beta$ CD) foi obtida através de doação pela empresa *Ashland Specialty Ingredients*.

03. O complexo de inclusão (CI) foi obtido respeitando a proporção equimolar (EPI: HB $\beta$ CD) de acordo com o peso molecular da HB $\beta$ CD e EPI.

04. O CI foi obtido triturando a EPI e HB $\beta$ CD por 1-2 min, com o auxílio de um gral e pistilo. Essa mistura foi transferida para um becker, seguida da adição de água destilada, sob agitação constante, e aquecimento a 30-40°C, até ocorrer total solubilização dos dois componentes da associação, havendo formação de uma solução totalmente límpida e transparente. A solução obtida foi mantida em freezer até total congelamento e, em seguida, submetida ao processo de liofilização, durante 4-6 dias;

05. A amostra foi retirada do liofilizador e armazenada em frasco-âmbar em um dessecador.

06. As curvas da Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) para caracterização térmica foram obtidas por meio de uma calorímetro, na faixa de temperatura de 30-300°C, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com fluxo de 90-110 mL.min<sup>-1</sup> e razão de aquecimento de 9-11°C.min<sup>-1</sup>. Foi utilizada massa de 4-6 mg, acondicionadas em porta-amostras de alumínio hermeticamente fechados. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do software TA-60WS.

07. As análises por Difração de Raios X (DRX) das amostras foram realizadas em um difratômetro, usando radiação Cu $\kappa\alpha$  de  $\lambda=1,5406$ . A contagem do tempo foi de 0,5-0,7 segundos para cada passo de 0,01-0,03°, com intervalo de varredura de 5 a 50° (2 $\theta$ ). Os difratogramas obtidos foram comparados com as cartas padrões JCPD cadastradas no ICDD (*International Centre of Diffraction Data*).

08. O espectro de infravermelho foi obtido utilizando o espectrofotômetro com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de seloneto de zinco. As amostras foram

transferidas diretamente para o compartimento do dispositivo de ATR em triplicata. Foram obtidas com varreduras de 400-4500  $\text{cm}^{-1}$  de resolução de 3-5  $\text{cm}^{-1}$ .

09. Para a análise do teste de dissolução *in vitro*, foi utilizado um dissolutor com aparato II (pá) e rotação de 40-60 rpm. Em cada cuba, foram adicionados 200-300 mL do meio de dissolução (pH 6,8 USP), mantendo a temperatura a  $37 \pm 0,3^\circ\text{C}$ . A coleta das amostras foi realizada em 5 pontos. Em cada ponto da curva, foi retirada alíquotas de 2-4 mL do meio de dissolução, com o auxílio de uma seringa, com posterior reposição do volume retirado. Foi utilizado, para cada amostra, o valor referente a 9-11% da concentração de saturação da EPI, a fim de se obedecer a relação *sink*. As amostras obtidas foram filtradas em filtro de membrana 0,45  $\mu\text{m}$  e devidamente diluídas para posterior quantificação da EPI por espectroscopia no UV-vis a 220nm, utilizando o meio de dissolução como o branco do equipamento, para eliminação de possíveis interferentes.

10. A curva analítica foi obtida a partir de cinco concentrações. Os valores de absorbância foram determinados por espectrofotômetro no comprimento de onda de 220nm, utilizando como branco o próprio meio de dissolução.

11. Para cada amostra retirada, foi calculado o percentual de fármaco dissolvido determinado em espectrofotômetro. Foi aplicada a equação da reta obtida, através de regressão linear e, a partir desta, foi possível identificar a concentração de EPI presente em cada tempo de coleta. Para o cálculo e obtenção da curva de calibração foi utilizado o software OringPro<sup>®</sup>, bem como para obtenção dos valores de área sobre a curva (AUC).

12. Nas curvas DSC do CI, observou-se um pico endotérmico largo em  $72^\circ\text{C}$ , referente à desidratação da HB $\beta$ CD. Isto pode ser um indicativo de interação entre a EPI e a HP $\beta$ CD, podendo sugerir também a sua complexação.

13. De acordo com os difratogramas, foi visualizada a completa amorfização do material, caracterizada pela ausência dos picos característicos do protótipo. Esta falta de cristalinidade forneceu evidências da formação de complexos de inclusão, pois uma vez que a molécula de EPI está inserida na cavidade da HB $\beta$ CD, esta se encontra impossibilitada de interagir com outras moléculas de EPI para formação de sua estrutura cristalina. Desta forma, o produto final apresentou-se completamente amorfo, perfil este característico das ciclodextrinas.

14. Na espectrofotometria de absorção por infravermelho, foi possível verificar uma possível interação da amostra contendo HP $\beta$ CD. Foi observado que o CI assumia quase que totalmente o perfil semelhante ao da HP $\beta$ CD, sendo um forte indício de uma eficiente complexação. Em algumas regiões, há ausência dos picos definidos e de grande intensidade presentes na EPI.

15. Nos resultados obtidos no perfil de dissolução, foi observado que, nos cinco primeiros minutos, têm-se 100% de EPI dissolvida quando na forma de CI, diferente do observado na amostra de EPI isolada, que demonstrou apenas 60%, aproximadamente, no tempo 90 minutos. Foi possível afirmar que o CI EPI: HP $\beta$ CD apresentou uma liberação imediata, aumentando a solubilidade aquosa da episopiloturina. Outra forma de avaliação foi através do cálculo da área sobre a curva (AUC), no qual foi possível verificar a relação entre o valor de AUC ( $AUC_{CI} = 109017,5$ ;  $AUC_{EPI} = 58427,5$ ).

## REIVINDICAÇÕES

1. Complexo de inclusão liofilizado contendo epiisopiloturina e ciclodextrina para o tratamento de doenças negligenciadas, caracterizado por conter como insumo farmacêutico ativo a episopiloturina.
2. Complexo de inclusão liofilizado contendo epiisopiloturina e ciclodextrina para o tratamento de doenças negligenciadas, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por apresentar como polímero a hidróxi-propil- $\beta$ -ciclodextrina (HP $\beta$ CD).
3. Complexo de inclusão liofilizado contendo epiisopiloturina e ciclodextrina para o tratamento de doenças negligenciadas, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado por apresentar indicações de sua utilização no tratamento da esquistossomose e da leishmaniose.
4. Complexo de inclusão liofilizado contendo epiisopiloturina e ciclodextrina para o tratamento de doenças negligenciadas, de acordo com as reivindicações 1, 2 e 3, caracterizado por incrementar a solubilidade aquosa da episopiloturina, favorecendo sua absorção pelo organismo e consequente aumento da biodisponibilidade sistêmica.
5. Complexo de inclusão liofilizado contendo epiisopiloturina e ciclodextrina para o tratamento de doenças negligenciadas, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4, caracterizado por utilizar o liofilizador como procedimento de secagem para extração do solvente.
6. Complexo de inclusão liofilizado contendo epiisopiloturina e ciclodextrina para o tratamento de doenças negligenciadas, de acordo com as reivindicações 1, 2, 3, 4 e 5, caracterizado por poder ser adicionado outro(s) excipiente(s) e/ou insumos farmacêuticos ativos vegetais e/ou sintéticos, adequado(s) ao(s) uso(s) para o tratamento das doenças negligenciadas.

**RESUMO**

**COMPLEXO DE INCLUSÃO LIOFILIZADO CONTENDO  
EPIISOPILOTURINA E CICLODEXTRINA PARA O TRATAMENTO DE  
DOENÇAS NEGLIGENCIADAS**

A presente patente de invenção refere-se ao complexo de inclusão liofilizado contendo episopiloturina e ciclodextrina para o tratamento de doenças negligenciadas. Este complexo contém como solvente a água destilada. Para obtenção do complexo de inclusão, foi utilizada a técnica de liofilização. Os resultados obtidos confirmaram a formação do complexo de inclusão desejado, apresentando um incremento na solubilidade aquosa da episopiloturina. Trata-se de uma matéria-pima inovadora, destinada ao tratamento de doenças negligenciadas.