



Universidade Federal do Piauí  
Rede Nordeste de Biotecnologia  
Programa de Pós-graduação em Biotecnologia  
- Ponto Focal -

**Desenvolvimento tecnológico de um complexo de inclusão:  $\beta$ -  
cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina e delineamento de suas aplicações  
farmacológicas**

PAULINE SOUSA DOS SANTOS

Teresina-PI

2018

PAULINE SOUSA DOS SANTOS

**Desenvolvimento tecnológico de um complexo de inclusão:  $\beta$ -  
cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina e delineamento  
de suas aplicações farmacológicas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia com sede na Universidade Federal Rural de Pernambuco e ponto focal na Universidade Federal do Piauí, como requisito para obtenção do grau de Doutora em Biotecnologia.

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes**  
**+Prof. Dr. Rivelilson Mendes de Freitas**

Teresina-PI

2018

PAULINE SOUSA DOS SANTOS

**Desenvolvimento tecnológico de um complexo de inclusão:  $\beta$ -  
cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina e delineamento de suas aplicações  
farmacológicas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia com sede na Universidade Federal Rural de Pernambuco e ponto focal na Universidade Federal da Piauí, como requisito para obtenção do grau de Doutora em Biotecnologia.

Aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

**Dr. Lívio César Cunha Nunes**  
Presidente (Interno ao Programa)

---

**Dr. Carlos Henrique Nery Costa**  
Examinador interno ao Programa

---

**Dra. Durcilene Alves da Silva**  
Examinador interno ao Programa

---

**Dr. Fabricio Pires de Moura do Amaral**  
Examinador externo ao Programa

---

**Dr. José Milton Elias de Matos**  
Examinador Externo ao Programa

“Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for. O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condições de palácio tem qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali? ” (Fernando Pessoa)

## **Agradecimentos**

Inicialmente agradeço pela paz de Deus, a qual excede todo entendimento científico, e que me conduziu nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Lívio César**, que me forneceu subsídios para realização deste trabalho através da orientação, apoio tecno-científico, amizade e confiança.

A Profa. **Dra Ana Rita Figueiras** da Universidade de Coimbra por ter me orientado durante o doutorado sanduíche e dado todo suporte e apoio necessários para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, **Prof. Dr Rivelilson Mendes de Freitas** (*in memoriam*) por seu exemplo de amor à ciência, além da extrema confiança dedicada a mim durante 6 anos de orientação. Nenhum agradecimento será capaz de compensar as intermináveis horas de dedicação, trabalho, conselhos, repreensões, direcionamentos e apoio incondicional, mesmo assim, deixo aqui o meu sincero muito obrigada, serei sua aluna eternamente. “*Somente seres humanos excepcionais suscitam ações elevadas*”, Albert Einstein.

Ao Laboratório de tecnologia Farmacêutica de Universidade de Coimbra e **Dr. Francisco Veiga**, diretor da faculdade de farmácia por todo apoio e acolhimento.

Ao Laboratório de Fisiofarmacologia Experimental (LAFEX), **Dr. Jand Venes Rolim Medeiros** e **Dr. Gilberto Cerqueira** pela colaboração nos estudos pré-clínicos.

Ao Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica experimental (LAPNEX) onde tive meu crescimento na pesquisa ainda durante as iniciações científicas.

Ao Laboratório de Inovação Tecnológica e Empreendedorismo (LITE) pelo suporte.

Agradeço à **Universidade Federal do Piauí**, por ter sido meu segundo lar durante esses anos e ter me proporcionado um grande amadurecimento profissional.

A **Universidade de Coimbra** por ter me dado todo o suporte e me acolhido durante um ano de doutorado de muito aprendizado e ao programa de doutorado sanduíche – CAPES pela concessão da bolsa durante esse período.

Às agências de fomento à pesquisa: **CNPq** - *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* e **CAPES** - *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior*, agradeço pelo prezado apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

A minha **família** e **amigos** por terem me privilegiado com sua presença, apoio e amor a todo o momento e construído minha formação profissional e pessoal.

A todos aqueles que contribuíram com a concretização deste trabalho, meus mais profundos e sinceros agradecimentos.

SANTOS, P.S. **Desenvolvimento tecnológico de um complexo de inclusão:  $\beta$ -cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina e delineamento de suas aplicações farmacológicas.** Orientador: Prof. Livio César Cunha Nunes. 2018. 171 p. Tese - Pós-Graduação em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí.

## RESUMO

O  $\beta$ -cariofileno (BCP), um fitocanabinoide presente em numerosos óleos essenciais, atraiu recentemente considerável atenção por demonstrar um alto potencial farmacológico em estudos pré-clínicos. No entanto, sua volatilidade, baixa solubilidade aquosa e facilidade de oxidação podem limitar a sua aplicação em formulações farmacêuticas. O objetivo deste trabalho de tese foi desenvolver novas formulações farmacêuticas orais e tópicas que garantam maior estabilidade e melhor perfil terapêutico ao BCP. Como resultados da fase 1 de estudos foram produzidos complexos de inclusão a partir do BCP com ciclodextrinas (CDs) modificadas (M $\beta$ CD e HP $\beta$ CD) na molaridade 1:1. Foi demonstrado que a solubilidade do BCP é significativamente aumentada através da complexação por estas CDs. As mudanças nas características físico-químicas para os sistemas binários observados em DSC, FTIR e MEV indicaram o estabelecimento de interações com uma nova formação de fase. Na espectroscopia de  $^1\text{H}$ -RMN os desvios calculados dos prótons localizados no interior da cavidade da CD confirmaram a inclusão do fármaco. Os estudos de dinâmica molecular mostraram a inclusão quase completa do BCP pelo lado largo da CD. Além disso, o complexo de inclusão obtido demonstrou melhorar as atividades anti-inflamatória, protetora gástrica e antioxidante em relação ao BCP não complexado por via oral em camundongos. O complexo de inclusão foi capaz de reduzir (84,12%, 3<sup>a</sup> h) o edema de pata induzido por carragenina de forma semelhante ao controle positivo (indometacina - 61,04%) demonstrando um perfil superior ao BCP não complexado (55,85%). Os estudos histológicos das patas confirmaram seu alto potencial anti-inflamatório. O pré-tratamento com BCP e BCP:M $\beta$ CD por via oral em camundongos também impediu significativamente a gastropatia macroscópica induzida pelo etanol de forma semelhante ao grupo tratado com omeprazol. Suas ações terapêuticas aqui demonstradas foram associadas a um bom perfil antioxidante, com a redução significativa dos níveis de MDA e Nox e aumento do teor de GSH. Na segunda fase deste trabalho, foram produzidos sistemas de veiculação poliméricos tópicos contendo BCP e BCP:M $\beta$ CD. Membranas adesivas foram obtidas por *casting* e caracterizadas por estudos macroscópicos, pH, DSC, FTIR e testes de adesão *ex vivo*. Como resultado, foram obtidos curativos poliméricos com características aceitáveis para uso tópico, pH semelhante ao da pele e boas características adesivas. Posteriormente os filmes foram testadas quanto a seu potencial cicatrizante em um modelo de cicatrização de feridas em camundongos. O BCP e BCP:M $\beta$ CD demonstraram melhorar o perfil cicatrizante do sistema polimérico acelerando a cicatrização, melhorando a remodelação dos tecidos e aumentando a espessura da epiderme em estudos histológicos. Por fim, foi realizado o pedido de depósito de patente submetido ao Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia, a fim de subsidiar a utilização do processo de obtenção do complexo de inclusão e do seu uso nas formulações farmacêuticas desenvolvidas neste trabalho de tese.

**Palavras-chave:** produto natural, sistemas de liberação de fármacos, tecnologia farmacêutica, Farmacologia.

SANTOS, P.S. **Technological development of a inclusion complex:  $\beta$ -caryophyllene/methyl- $\beta$ -cyclodextrin and delineation of its pharmacological applications** Advisor: Professor Lívio Cesar Cunha Nunes. 2018. p.171 Thesis – Post-Graduate Studies in Biotechnology, Rede Nordeste (Northeast Network) of Biotechnology, Federal University of Piauí (UFPI), Teresina, Piauí.

### ABSTRACT

$\beta$ -caryophyllene (BCP), a phytocannabinoid present in several essential oils, recently has attracted considerable attention for demonstrating high pharmacological potential in preclinical studies. However, its volatility, low aqueous solubility and being easily oxidizable, may limitate its application in pharmaceutical formulations. This thesis aimed to develop new oral and topical pharmaceutical formulations that guarantee better stability and better therapeutic profile to BCP. As results of the first phase of the study, inclusion complexes were produced since BCP and modified cyclodextrins (CDs) (M $\beta$ CD and HP $\beta$ CD) in 1:1 molarity. It was demonstrated that BCP solubility is significantly increased through the complexation with these CDs. The changes in physical-chemical characteristics for the binary systems observed in DSC, FTIR and MEV indicated the establishment of interactions with a formation of new phase. In the H-NMR spectroscopy, the calculated deviation of protons located in the interior of CD cavity confirmed the drug inclusion. The studies of molecular dynamics have shown an almost complete inclusion of BCP through the long side of CD. Besides that, the obtained inclusion complex have also shown improved gastric protection, antiinflammatory, antioxidant activities regarding non-complexed BCP in oral route in mice. The inclusion complex was able to reduce (84.12%, 3rd hour) the carrageenan induced paw edema similarly to the positive control (indomethacin – 61.04%) demonstrating a superior profile over non-complexed BCP (55.85%). The paw histological studies have confirmed its high antiinflammatory potential. Pretreatment with BCP and BCP:M $\beta$ CD by oral route in mice also significantly prevented macroscopic gastropathy induced by ethanol similarly to group treated with omeprazole. Its therapeutic activities demonstrated in this study were associated to a good antioxidant profile, with significant reduction of MDA and Nox levels and increase of GSH content. In the second phase of this study, polymeric topical delivery systems with BCP and BCP:M $\beta$ CD were produced. Adhesive membranes were obtained by *casting* and characterized by macroscopic studies, pH, DSC, FTIR and adhesion tests *ex vivo*. As results, we obtained polymeric dressings with acceptable characteristics for topical use, pH similar to skin and good adhesive characteristics. Posteriorly, membranes were tested about their healing potential in a wound healing model in mice. BCP and BCP:M $\beta$ CD have demonstrated improvement of the healing profile of the polymeric system, accelerating the heal, improving tissue remodeling and increasing epidermis and dermis thickness in histological studies. At last, the patent filing request was submitted to Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia, in order to subsidize the use of the obtention process of the inclusion complex and its use in the formulations developed in this thesis.

**Keywords:** natural product, drug delivery systems, pharmaceutical technology, pharmacology.



## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO

<b>Figura 1</b> Organização do trabalho de tese.....	19
--	----

### REVISÃO DE LITERATURA

<b>Figura 1</b> Estrutura química da unidade de isopreno.....	25
<b>Figura 2</b> Atividades farmacológicas de compostos terpênicos.....	26
<b>Figura 3</b> Estrutura da $\alpha$ -ciclodextrina, $\beta$ -ciclodextrina, $\gamma$ -ciclodextrina (3) e sua estrutura tridimensional tronco-cônica.....	28
<b>Figura 4</b> Estrutura química do BCP.....	31
<b>Figura 5</b> Ações terapêuticas do BCP mediadas por receptores CB <sub>2</sub> .....	33
<b>Figura 6</b> Metabolização do BCP em coelhos.....	34
<b>Figura 7</b> Características físico-químicas desfavoráveis do BCP para aplicação em formulações farmacêuticas.....	35

### CAPÍTULO I

<b>Figura 1</b> Progressão temporal do número total de artigos publicados sobre o $\beta$ -cariofileno nas bases de dados Pubmed (PM), Science Direct (SD) e web of Science (WS).....	50
<b>Figura 2</b> Principais atividades farmacológicas descritas para o BCP.....	51
<b>Figura 3</b> Sistemas de liberação propostos para veiculação do BCP.....	53
<b>Figura 4</b> Porcentagem de artigos por tipo de SL verificados para veiculação do BCP.....	54
<b>Figura 5</b> Distribuição do número de pedidos de depósitos patentários durante a última década para o BCP.....	67
<b>Figura 6</b> Países depositantes de patentes sobre o BCP na EPO e WIPO.....	68
<b>Figura 7</b> Patentes depositadas nos bancos tecnológicos por código de classificação internacional.....	69

### CAPÍTULO II

<b>Figura 1</b> Estruturas químicas do BCP e M $\beta$ CD.....	88
<b>Figura 2</b> Estudos de solubilidade de fases do BCP com M $\beta$ CD e HP $\beta$ CD em solução aquosa a $25 \pm 2$ °.....	95
<b>Figura 3</b> Estudos de dinâmica molecular: interações existentes entre o BCP e a M $\beta$ CD e estruturas conformacionais do complexo de inclusão BCP:M $\beta$ CD.....	98

<b>Figura 4</b> Curvas de DSC da M $\beta$ CD, do BCP, da mistura física (MF) e dos sistemas binários.....	99
<b>Figura 5</b> Espectros FTIR da M $\beta$ CD, BCP, mistura física (MF) e complexos de inclusão obtidos por métodos MAL, ROT e LPh.....	101
<b>Figura 6</b> Microfotografias eletrônicas de varredura da M $\beta$ CD, MF e complexos preparados pelos métodos MAL, ROT e LPh .....	102
<b>Figura 7</b> Efeitos do BCP e BCP:M $\beta$ CD no edema de pata induzida pelo carragenina em camundongos.....	105
<b>Figura 8</b> Efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes do BCP e BCP:M $\beta$ CD em tecidos das patas ou na peritonite induzida por carragenina em camundongos.....	107
<b>Figura 9</b> Ação do BCP e BCP:M $\beta$ CD em lesões gástricas induzidas por etanol em camundongos.....	109

### CAPÍTULO III

<b>Figura 1</b> Resultado das análises de força de adesão para os filmes desenvolvidos.....	131
<b>Figura 2</b> Curva térmica de DSC da quitosana e dos filmes produzidos.....	132
<b>Figura 3</b> Curva térmica de DSC para os constituintes e para o filme contendo o ativo BCP livre ou complexado pela M $\beta$ CD).....	134
<b>Figura 4</b> Espectros de FTIR para quitosana, glicerina e filmes produzidos com quitosana e variações de glicerina.....	136
<b>Figura 5</b> Espectros FTIR para os constituintes e para o filme contendo o ativo BCP livre ou complexado pela M $\beta$ CD.....	138
<b>Figura 6</b> Avaliação do grau de contração (%) de lesões cutâneas de camundongos nos dias 4, 6, 10 e 14, tratados com solução salina (controle negativo) e tratamento tópico com quitosana 1% (veículo) e curativo de quitosana com beta-cariofileno 0,5, 1 e 1,5%.....	140
<b>Figura 7</b> Análise macroscópica de lesões cutâneas após 1, 4, 6, 10 e 14 dias de tratamento diário.....	141
<b>Figura 8</b> Avaliação do grau de contração (%) de lesões cutâneas de camundongos nos dias 4, 6, 10 e 14, tratados com solução salina (controle negativo) e tratamento tópico com quitosana 1% (veículo) e curativo de quitosana com o complexo de inclusão BCP:M $\beta$ CD 0,5, 1 e 1,5%.....	143

<b>Figura 9</b> Análise macroscópica de lesões cutâneas após 1, 4, 6, 10 e 14 dias de tratamento diário.....	144
<b>Figura 10</b> Análise histológica da lesão cutânea de camundongos tratados durante quatorze dias consecutivos com curativo biológico de quitosana contendo BCP ( $\beta$ -cariofileno) ou BCP:MB $\beta$ D ( $\beta$ -cariofileno:metil- $\beta$ -ciclodextrina). Coloração por hematoxilina/eosina e visualização por microscopia óptica.....	146
<b>Figura 11</b> Análise histológica da concentração de mastócitos em lesão cutânea de camundongos Swiss tratados durante quatorze dias consecutivos com os curativo.....	148
<b>Figura 12</b> Contagem de mastócitos presentes na derme de camundongos após 14 dias da indução de feridas, coloração por azul de toluidina.....	148
<b>Figura 13</b> Efeito dos curativos sobre a espessura da epiderme no 14º dia de tratamento das feridas cutâneas dos camundongos.....	150

## LISTA DE TABELAS

### REVISÃO DE LITERATURA

<b>Tabela 1</b> Propriedades físico-químicas de ciclodextrinas modificadas a partir da $\beta$ CD.....	29
<b>Tabela 2</b> Propriedades físico-químicas e toxicológicas do BCP.....	35

### CAPÍTULO I

<b>Tabela 1</b> Número artigos científicos sobre o $\beta$ -cariofileno empregado em sistemas de veiculação/liberação destinado a formulações farmacêuticas.....	53
<b>Tabela 2</b> SL propostos para melhorar a atividade e estabilidade do BCP.....	55
<b>Tabela 3</b> Patentes relacionadas as aplicações tecnológicas do BCP depositadas nas bases de dados WIPO, EPO e INPI, descritas pelo código A61K.....	71

### CAPÍTULO II

<b>Tabela 1</b> Parâmetros obtidos a partir dos diagramas de solubilidade de fase dos sistemas BCP: M $\beta$ CD e BCP: HP $\beta$ C.....	96
<b>Tabela 2</b> Deslocamentos químicos correspondentes ao M $\beta$ CD em estado livre e no complexo de inclusão.....	97

### CAPÍTULO III

<b>Tabela 1.</b> Distribuição dos grupos experimentais para avaliação das feridas cutâneas em camundongos.....	125
<b>Tabela 2.</b> Resultado da análise macroscópica, pH e peso total para os filmes preliminares desenvolvidos com variação do plastificante.....	128
<b>Tabela 3.</b> Avaliação semi-quantitativa dos escores histopatológicos das lesões cutâneas de camundongos Swiss tratados durante quatorze dias consecutivos com curativo biológico de quitosana contendo BCP ( $\beta$ -cariofileno) e BCP:MB $\beta$ D ( $\beta$ -cariofileno:metil- $\beta$ -ciclodextrina).....	145

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

®	Marca registrada
β-CD	β – ciclodextrina
ANOVA	Análise de Variância
BCP	β-cariofileno
BCP:HPβD	Complexo de inclusão do β-cariofileno com a Hidroxipropil-β-ciclodextrina
BCP:MβD	Complexo de inclusão do β-cariofileno com a metil-β-ciclodextrina
CAS	Serviço de Resumos Químicos
C.	Curativos
CDs	Ciclodextrinas
CG	Carragenina
CM	Centro de massa
DL <sub>50</sub>	Dose que induz letalidade em 50% da população de uma amostra
DM	Dinâmica molecular
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
E.P.M.	Erro padrão da média
EPO	<i>European Patent Office</i>
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier
GLI	Glicerol
GSH	Glutathiona reduzida
HE	Hematoxilina e eosina
HPβCD	Hidroxipropil-β-ciclodextrina
INDO	Indometacina
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
i.p.	Via intraperitoneal
i.pl.	Via intraplantar
°Ks	Constantes de estabilidade aparente

LPh	Liofilização
LPS	Lipopolisacarídeo bacteriano
LP	Lipossomas
OE	Óleos essenciais
MAL	Malaxagem
MP	Micelas poliméricas
MDA	Malondialdeído
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MF	Mistura física
MPO	Mieloperoxidase
NC	Nanocomposito
NM	Nanoemulsões
NP	Nanopartículas
NPM	Nanopartículas metálicas
NPL	Nanopartículas lipídicas sólidas
M $\beta$ CD	Metil- $\beta$ -ciclodextrina
P & D	Pesquisa e desenvolvimento
PM	Pubmed
QUI	Quitosana
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
ROT	Evaporação rotativa
Sal	Solução salina 0,9%
SD	<i>Science Direct</i>
SL	Sistema de liberação.
SNC	Sistema Nervoso Central
Tg	Transição vítrea
TGI	Trato gastrointestinal
THC	Tetrahidrocanabinol
USPTO	<i>United States Patent and Trademark Office</i>
v.o	Via oral
WIPO	<i>World Intellectual Property Organization</i>
WS	<i>web of Science</i>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	21
2.1 Objetivo Geral.....	21
2.2 Objetivos Específicos.....	21
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	24
3.1 Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos a partir de produtos naturais.....	24
3.2 Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos a partir de Óleos Essenciais.....	25
3.3 As Ciclodextrinas em formulações farmacêuticas.....	27
3.4 Complexação de terpenos por ciclodextrinas.....	29
3.5 Descrição do sesquiterpeno $\beta$ -cariofileno: um canabinoide dietético.....	31
<b>4. CAPÍTULO I: Sistemas de liberação desenvolvidos para o canabinoide <math>\beta</math>-cariofileno: uma prospecção científica e tecnológico</b> .....	46
Resumo .....	46
Resumo gráfico.....	47
1. Introdução.....	48
2. Metodologia.....	49
3. Resultados e Discussão.....	50
4. Conclusão.....	75
Referências.....	75
<b>5. CAPÍTULO II: Complexo de inclusão <math>\beta</math>-cariofileno/ metil-<math>\beta</math>-ciclodextrina: preparação, caracterização e perfil farmacológico</b> .....	86
Resumo.....	86
Resumo gráfico.....	87
1. Introdução.....	88
2. Material e Métodos.....	89
3. Resultados e Discussão.....	95
4. Conclusão.....	111
Referências.....	111
<b>6. CAPÍTULO III: Potencial cicatrizante do <math>\beta</math>-cariofileno e do complexo de inclusão <math>\beta</math>-cariofileno/metil- <math>\beta</math>-ciclodextrina em curativos biológicos de quitosana.</b>	120
Resumo.....	120
Resumo gráfico.....	121
1. Introdução.....	122
2. Material e Métodos.....	123

3. Resultados e Discussão.....	127
4. Conclusão.....	150
Referências.....	151
<b>7. CAPÍTULO IV: Formulações Farmacêuticas Contendo O Complexo De Inclusão:β-Cariofileno/Metil-β-Ciclodextrina.....</b>	<b>160</b>
Resumo.....	160
Reinvidicações.....	161
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>164</b>
<b>PERSPECTIVAS.....</b>	<b>167</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>169</b>



**PÁGINAS SUPRIMIDAS – 16 a 52**

**“FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO O COMPLEXO DE  
INCLUSÃO  $\beta$ -CARIOFILENO/METIL- $\beta$ -CICLODEXTRINA”**

**RESUMO**

A presente invenção diz respeito a formulações farmacêuticas contendo o complexo de inclusão do  $\beta$ -cariofileno (BCP) com a metil- $\beta$ -ciclodextrina com propriedades de suprimir danos gástricos e diminuir inflamação. Mais especificamente, a presente invenção refere-se a formulações que contenham, pelo menos, o complexo  $\beta$ -cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina na molaridade 1:1 obtido por diferentes métodos (malaxagem, liofilização e evaporação rotativa), utilizado por meio de diferentes formas farmacêuticas, demonstrando ser uma formulação capaz de desempenhar propriedades gastro-protetoras e anti-inflamatórias associadas. Estas composições podem ser utilizadas para o tratamento ou para a prevenção de uma ampla variedade de condições ou distúrbios inflamatórios que necessitem de proteção da mucosa gástrica, ou prevenção de danos gástricos de diferentes naturezas.

## REIVINDICAÇÕES

1. **Formulações farmacêuticas contendo o complexo de inclusão:  $\beta$ -cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina**, caracterizadas por compreender pelo menos um complexo entre as moléculas  $\beta$ -cariofileno e a metil- $\beta$ -ciclodextrina na molaridade 1:1 em veículo de uso farmacêutico.
2. **Formulações farmacêuticas contendo o complexo de inclusão:  $\beta$ -cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ter potencialidade de incremento da solubilidade do terpeno BCP em água em até 10 vezes na presença de concentrações maiores que 40 mM.
3. **Formulações farmacêuticas contendo o complexo de inclusão:  $\beta$ -cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ser obtido por métodos como malaxagem, liofilização e evaporação rotativa e a partir do estado sólido veiculado em soluções aquosas.
4. **Formulações farmacêuticas contendo o complexo de inclusão:  $\beta$ -cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ter propriedade de suprimir danos gástricos em lesões que envolvam estresse oxidativo.
5. **Formulações farmacêuticas contendo o complexo de inclusão:  $\beta$ -cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ter propriedade de suprimir danos gástricos em ocasiões em que seja utilizado pelas suas propriedades anti-inflamatórias.
6. **Formulações farmacêuticas contendo o complexo de inclusão:  $\beta$ -cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por suas propriedades anti-inflamatórias serem relativas a capacidade de reduzir infiltrado inflamatório celular e estresse oxidativo.
7. **Formulações farmacêuticas contendo o complexo de inclusão:  $\beta$ -cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ser veiculado em apresentações farmacêuticas que estejam na forma de produtos farmacêuticos sólidos, semi-sólidos e/ou líquidos em concentrações de cerca de 25 a 75 mg/kg.
8. **Formulações farmacêuticas contendo o complexo de inclusão:  $\beta$ -cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ser veiculado associado

a outros adjuvantes farmacêuticos como antioxidantes, conservantes, corantes, flavorizantes, com objetivo de fornecer maior estabilidade e aceitabilidade.

9. **Formulações farmacêuticas contendo o complexo de inclusão:  $\beta$ -cariofileno/metil- $\beta$ -ciclodextrina**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por ser de uso humano ou animal.

# Considerações Finais

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho de tese foi desenvolvido um novo complexo de inclusão utilizando o BCP e a M $\beta$ CD que pode levar a importantes modificações na solubilidade deste fitocanabinoide.

As informações obtidas a partir de estudos de DSC, MEV e  $^1\text{H}$  RMN mostraram que complexos de inclusão BCP:M $\beta$ CD no estado sólido podem ser preparados numa proporção molar 1:1 por métodos MAL, ROTe LPh.

Os dados dos espectros de  $^1\text{H}$ -RMN e os estudos de simulação de dinâmica molecular demonstraram que a complexação ocorre preferencialmente pelo lado mais largo da CD.

O complexo de inclusão obtido promoveu uma melhoria das atividades anti-inflamatória, protetora gástrica e antioxidante em relação ao BCP não complexado por via oral em camundongos. Demonstrando ser um produto promissor para o futuro aplicação em SL oral de fármacos.

Como sistemas para utilização do BCP por via tópica foram desenvolvidos sistemas adesivos utilizando quitosana como matriz polimérica e glicerina como plastificante para a veiculação do BCP e BCP:M $\beta$ CD como ativos cicatrizantes.

Na etapa de caracterização do material, o plastificante demonstrou ser útil como agente melhorador das características macroscópicas dos curativos como flexibilidade e força de adesão *ex vivo*.

Após a realização dos testes com variações na concentração de plastificante, foi possível obter uma membrana de quitosana com características adequadas para aplicação tópica.

A atividade cicatrizante do BCP e BCP:M $\beta$ CD veiculados em curativo de quitosana foi evidenciada por meio das análises macroscópicas e histológicas de lesões cutâneas induzidas em camundongos.

Os curativos obtidos apresentaram eficácia no processo de cicatrização, acelerando esse evento e melhorando a remodelação dos tecidos, demonstrando aplicabilidade como novo produto que auxilie na rápida cicatrização de feridas.

Novos estudos devem ser realizados no sentido de melhor caracterizar os sistemas obtidos voltados para analisar sua estabilidade, perfil de liberação e farmacocinética para sua futura utilização na área clínico farmacêutica.

# Perspectivas

---



## **PERSPECTIVAS**

O complexo de inclusão com a M $\beta$ CD demonstrou ser um produto promissor para a utilização do sesquiterpeno BCP em formulações farmacêuticas orais e tópicas. Diante dos resultados encontrados, são propostas as seguintes perspectivas para a continuação do estudo:

- ▶ Realizar estudos farmacocinéticos, para evidenciar a melhor biodisponibilidade oral da do complexo de inclusão obtido;
- ▶ Realizar estudos de estabilidade com o complexo de inclusão;
- ▶ Continuar os estudos relativos a caracterização dos curativos poliméricos obtidos para verificar sua capacidade de liberação de BCP e sua estabilidade, além de maiores estudos em relação a seus mecanismos de ação cicatrizantes.

# Anexos

---

**ANEXO A:** Declaração do depósito de pedido de patente submetido ao Instituto Nacional de Propriedade Industrial por meio do Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnológica na Universidade Federal do Piauí.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**NÚCLEO DE INOVAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA**  
*Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Setor de Convivência L09 e L10*  
*Bairro Ininga CEP: 64049-550-Teresina-PI Fone/Fax (86)3237-1638*

## DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que a Universidade Federal do Piauí, através do Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia da UFPI – NINTEC –, efetuou às 16:24 horas do dia 15/06/2018, sob o número de Protocolo do INPI: 870180051629 o depósito de Pedido de Patente de Invenção intitulado “**FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO O COMPLEXO DE INCLUSÃO:  $\beta$ -CARIOFILENO/METIL- $\beta$ -CICLODEXTRINA**”, com o número **BR 10 2018 012294-0** desenvolvido pelos inventores:

LÍVIO CÉSAR CUNHA NUNES

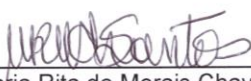
PAULINE SOUSA DOS SANTOS

ANA RITA RAMALHO FIGUEIRAS

FRANCISCO JOSÉ BAPTISTA VEIGA

JAND VENES ROLIM MEDEIROS

Teresina, 21 de junho de 2018.

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Maria Rita de Moraes Chaves Santos  
Coordenadora do Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia

## ANEXO B: Primeira página do artigo publicado intitulado “Methyl- $\beta$ -cyclodextrin Inclusion Complex with $\beta$ -Caryophyllene: Preparation, Characterization, and Improvement of Pharmacological Activities”.

This is an open access article published under an ACS AuthorChoice License, which permits copying and redistribution of the article or any adaptations for non-commercial purposes.



Cite This: ACS Omega 2017, 2, 9080–9094

Article

### Methyl- $\beta$ -cyclodextrin Inclusion Complex with $\beta$ -Caryophyllene: Preparation, Characterization, and Improvement of Pharmacological Activities

Pauline S. Santos,<sup>†</sup> Luan K. M. Souza,<sup>‡</sup> Thiago S. L. Araújo,<sup>‡</sup> Jand Venes R. Medeiros,<sup>‡</sup> Sandra C. C. Nunes,<sup>§</sup> Rui A. Carvalho,<sup>||</sup> Alberto C. C. Pais,<sup>§</sup> Francisco J. B. Veiga,<sup>⊥</sup> Lívio C. C. Nunes,<sup>†</sup> and Ana Figueiras<sup>\*⊥</sup>

<sup>†</sup>Postgraduate Program of Northeast Biotechnology Network, Faculty of Pharmacy, Federal University of Piauí, Teresina, 64049-550, Piauí, Brazil

<sup>‡</sup>Northeast Biotechnology Network, Postgraduate Program in Biotechnology, Federal University of Piauí, 64202-020, Parnaíba, Piauí, Brazil

<sup>§</sup>Department of Chemistry, CQC, <sup>||</sup>Department of Biochemistry, NMR Spectroscopy Center, Faculty of Sciences and Technology, and <sup>⊥</sup>REQUIMTE/LAQV, Group of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal

Supporting Information

**ABSTRACT:**  $\beta$ -Caryophyllene (BCP) is a sesquiterpene that shows high potential in pharmacological applications. However, these have been drastically limited by the respective volatility and poor water solubility. The present study investigates the formation of inclusion complexes between BCP and methyl- $\beta$ -cyclodextrin (M $\beta$ CD) and shows that these complexes promote a significant improvement of the anti-inflammatory, gastric protection, and antioxidant activities relative to neat BCP. It is shown that the solubility of BCP is significantly increased through complexation in phase solubility studies. Inclusion complexes with M $\beta$ CD in solid state were prepared by three different methods, kneading, rotary evaporation, and lyophilization, with the latter confirmed by differential scanning calorimetry, Fourier transformed infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, and molecular dynamics studies. This study provides for the first time a full characterization of inclusion complexes between BCP and M $\beta$ CD and highlights the impact of complex formation upon pharmacological activity.



