



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

(21) BR 102016026715-3 A2

(22) Data do Depósito: 16/11/2016

(43) Data da Publicação: 05/06/2018



* B R 1 0 2 0 1 6 0 2 6 7 1 5 A

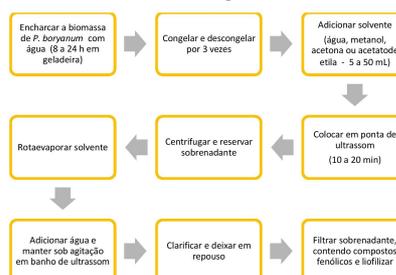
(54) Título: PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS A PARTIR DA MICROALGA PEDIASTRUM BORYANUM, FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA, PROCESSO DE PREPARO DAS FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E USO DA FORMULAÇÃO

(51) Int. Cl.: A61K 36/05; A61P 17/02; A61P 17/18; A61P 29/00

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG

(72) Inventor(es): HELDER FERREIRA TEIXEIRA; JULIANA BIDONE; ANA LUIZA MUCCILLO BAISCH; CRISTIANA LIMA DORA; ELIANA BADIALE-FURLONG; JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA; DANILLO GIROLDI; MARÍLIA GARCEZ CORRÊA DA SILVA; LIDIANE DAL BOSCO; MICHELLE MAIDANA ALTENHOFEN DA SILVA

(57) Resumo: A presente invenção descreve a utilização de biomassa ou compostos fenólicos extraídos de micro-organismos para formulação de produtos farmacêuticos; Mais especificamente a presente invenção se refere a um Processo de Extração de Compostos Fenólicos a partir da Microalga Pediastrum boryanum, um Processo de Preparo de Formulações Farmacêuticas contendo Biomassa ou Compostos Fenólicos, a Formulação Farmacêutica contendo Biomassa ou Compostos Fenólicos e o Uso desta Formulação Farmacêutica para fins Cosméticos ou Dermatológicos. A presente invenção situa nos campos da Farmácia e Química.



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS A PARTIR DA MICROALGA *PEDIASTRUM BORYANUM*, FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA, PROCESSO DE PREPARO DAS FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E USO DA FORMULAÇÃO

Campo da Invenção

[0001] A presente invenção descreve a utilização de biomassa ou compostos fenólicos extraídos de micro-organismos para formulação de produtos farmacêuticos; Mais especificamente a presente invenção se refere a um Processo de Extração de Compostos Fenólicos a partir da Microalga *Pediastrum Boryanum*, um Processo de Preparo de Formulações Farmacêuticas contendo Biomassa ou Compostos Fenólicos, a Formulação Farmacêutica contendo Biomassa ou Compostos Fenólicos e o Uso desta Formulação Farmacêutica para fins Cosméticos ou Dermatológicos. A presente invenção se situa nos campos da Farmácia e Química.

Antecedentes da Invenção

[0002] As patentes de invenção que mencionam fórmulas para uso tópico contendo microalgas são escassas. Da mesma forma, produtos para uso cosmético ou dermatológicos com princípios ativos derivados de microalgas. O crescente interesse e estudos sobre as propriedades farmacológicas dos produtos de origem algal levam à melhoria nos processos de cultivo, extração dos seus compostos bioativos e o desenvolvimento de produtos contendo esses compostos.

[0003] As formulações mais atuais são baseadas em compostos bioativos extraídos, geralmente de frutas ou plantas. Na busca pelo estado da técnica em literaturas científica e patentária, foram encontrados os seguintes documentos que tratam sobre o tema:

[0004] A patente de invenção WO2015100506 (A1) (Salomon; et al., 2015), solicitada pela Universidade de Talca no Chile apresenta um método de

extração que melhora diversos outros métodos utilizados anteriormente, porém a partir de cascas de maçã. As peculiaridades das microalgas requerem uma abordagem de acordo com suas características, e as patentes disponíveis até o momento não apresentam tal solução conforme descrito por esta patente.

[0005] A patente de invenção WO2015135927(A1) (Benedusi et al., 2015) que solicita a patente de compostos com atividade antioxidante, juntamente com uma ação anti-inflamatória e composições farmacêuticas e cosméticas contendo-os para o tratamento de pele e cabelo, trata de formulações e da síntese de compostos fenólicos e foi depositada em 2015 por Giuliani S.P.A, Itália. Esta patente trata da síntese em laboratório de compostos fenólicos. Já o caráter inovador do presente pedido de patente está no fato de tratar-se de compostos fenólicos extraídos de um micro-organismo, o que confere a estes compostos uma característica peculiar.

[0006] A patente de invenção GR20110100670 (A) (Dimitriou; e Nikolaou, 2013) que apresenta método de extração de compostos fenólicos naturais a partir de fontes vegetais, se refere a um processo com adição de um surfactante. O método proposto pelo presente pedido de patente utiliza apenas um solvente e métodos físicos para a extração.

[0007] A patente de invenção US6197303B1 (Jean; e Romuald, 2001) de 2001, solicitada por Codif International S.A., trata de utilização de extrato concentrado da alga *Chlorella* para produtos indicados para prevenção e cuidados para doenças de pele. Esta patente trata da preparação por moagem, diferença de pH e filtração do extrato concentrado da microalga *Chlorella* apenas para uso tópico, melhorando a resposta protetora a agressões da luz às células de Langerhans da epiderme.

[0008] A solicitação de patente número PI08011320A2 (Basmaji; e Filho, 2011) por Lauro Xavier Filho e Pierree Basmaji em 2011 deposita formulações para obtenção de creme antioxidante e cicatrizante com β -caroteno proveniente de microalgas. A patente se refere à β -caroteno extraídos da microalga *Dunaliella salina* em uma formulação cremosa para aplicação tópica como

antioxidante natural para revitalizar e cicatrizar células dérmicas. Esta formulação, PI0801132-0A2, contém também própolis e ácido úsnico. Na presente invenção, com o uso da biomassa da microalga *P. Boryanum* ou seu extrato fenólico obtém-se resultados antioxidante, anti-inflamatório e cicatrizante sem adição de outros componentes à fórmula.

[0009] No documento US8557249B2 (Brooks; e Franklin, 2008) de 2013 de titularidade de Solazyme Inc. estão descritas composições cosméticas contendo microalgas. Os titulares desta patente incluem formulações com óleos extraídos de microalgas e carotenoides. As composições podem conter uma ou mais espécies de microalgas e possuem função emoliente e hidratante, porém a invenção descreve a microalga *Chlorella* e suas espécies homólogas.

[0010] A patente submetida sob o número US8557249B2, de outubro de 2013 por Geoffrey Brooks, Scott Franklin (Brooks e Franklin, 2013) tem em suas reivindicações formulações com a biomassa da microalga *Chlorella protothecoides*, β -caroteno e com uma combinação de óleos extraídos da mesma. Esta patente utiliza o óleo extraído de diversas maneiras e o antioxidante β -caroteno.

[0011] Uma desvantagem das formulações apresentadas acima é o uso de diferentes microalgas e a associação com outros componentes sintéticos para atender as propostas farmacológicas das formulações.

[0012] Existe a necessidade de uma solução simples e com alto rendimento para a extração de compostos fenólicos assim como o desenvolvimento de uma forma farmacêutica de uso tópico adequada para atender os tratamentos de envelhecimento cutâneo, processos inflamatórios e da melhoria no processo de cicatrização.

[0013] Na presente invenção, é criada uma possibilidade de inserção de novas etapas para o rompimento da parede celular, composta por polissacarídeos da microalga, melhorando a extração dos compostos fenólicos produzidos pela mesma.

[0014] Na presente invenção, são evitados os inconvenientes das associações descritas acima, apresentando para isso o uso exclusivo da biomassa da microalga ou dos compostos fenólicos de uma única microalga, de fácil cultivo.

[0015] Diferentemente das patentes existentes e descritas acima, a presente solicitação de patente constitui não só um processo de extração de compostos fenólicos, mas o desenvolvimento de uma formulação com potencial para utilização como antioxidante, anti-inflamatório e cicatrizante com a biomassa ou os compostos bioativos como o extrato fenólico da microalga *P. Boryanum*, nunca antes explorada para fins dermatológicos e cosméticos.

[0016] Assim, do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica.

Sumário da Invenção

[0017] A presente invenção se refere a um Processo de Extração de Compostos Fenólicos a partir da Microalga *Pediastrum Boryanum*, um Processo de Preparo de Formulações Farmacêuticas contendo a Biomassa ou Compostos Fenólicos, a Formulação Farmacêutica contendo a Biomassa ou Compostos Fenólicos e o Uso desta Formulação Farmacêutica para fins Cosméticos ou Dermatológicos.

[0018] Dessa forma, a presente invenção tem por objetivo resolver os problemas constantes no estado da técnica a partir da extração de compostos fenólicos de microalgas e desenvolvimento de produtos naturais para o tratamento de envelhecimento cutâneo, processos inflamatórios e cicatrização na pele neste caso. Por serem compostos extraídos de micro-organismos, no caso, a microalga, que é facilmente cultivável.

[0019] Em relação ao processo de extração, o diferencial está na incorporação de algumas etapas que ajudam a romper a parede celular da

microalga, como o encharque da amostra, processo de congelamento e descongelamento seguido do uso de ondas de ultrassom. Todos os processos inovadores são físicos, sem uso adicional de solventes.

[0020] Em relação ao produto desta invenção, a formulação é inovadora por conter a biomassa ou compostos bioativos extraídos da microalga *P. boryanum*, que é de fácil cultivo e possui atividade antioxidante, anti-inflamatória e cicatrizante, nunca antes usada para este fim.

[0021] Ainda, o conceito inventivo comum a todos os contextos de proteção reivindicados resolvem da mesma forma o mesmo problema.

[0022] Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesses no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

Breve Descrição das Figuras

[0023] Com o intuito de melhor definir e esclarecer o conteúdo do presente pedido de patente, são apresentadas as presente figuras:

[0024] A figura 1 mostra as etapas do processo de extração de compostos fenólicos a partir da microalga *Pediastrum boryanum*.

[0025] A figura 2 mostra o cromatograma de compostos fenólicos extraídos da microalga *P. boryanum* utilizando metanol como solvente.

[0026] A figura 3 mostra o espectro de massas de compostos fenólicos extraídos da microalga *P. boryanum* utilizando metanol como solvente.

Descrição Detalhada da Invenção

[0027] A presente invenção pode ser melhor compreendida a partir da descrição detalhada a seguir e seguintes cláusulas:

[0028] Em um primeiro aspecto, a presente invenção define um processo de extração de compostos fenólicos a partir da microalga *Pediastrum boryanum* compreendendo as etapas:

- a. Pesar a biomassa da microalga e adicionar água;
- b. Encharcar a biomassa de *P. Boryanum* e misturar aos poucos com água;
- c. Realizar procedimento de choque-térmico;
- d. Adicionar solvente;
- e. Colocar em ponta de ultrassom entre 10 a 20 minutos;
- f. Centrifugar e separar sobrenadante;
- g. Evaporar o solvente do sobrenadante;
- h. Adicionar água e manter sob agitação em banho de ultrassom até o conteúdo aderido à parede do frasco se dispersar no líquido;
- i. Clarificar e deixar em repouso;
- j. Transferir para frasco adequado para centrifuga;
- k. Realizar centrifugação;
- l. Filtrar sobrenadante e transferir para recipiente; e
- m. Levar o frasco ao congelador para congelar a amostra.

Em uma concretização, o processo compreende adicionalmente pelo menos uma etapa de preparar a biomassa antes da etapa “a”, em que a dita etapa de preparar a biomassa compreende as etapas de:

- Cultivo da microalga *P. boryanum* em meio adicionado de nutrientes BG11 modificado adicionado de 4 g.L^{-1} de NaHCO_3 até alcançar a fase estacionária de crescimento
- Centrifugação das células e nutrientes;
- Coleta dos sedimentos;
- Secagem dos sedimentos por liofilização; e
- Geração de massa seca denominada de Biomassa.

[0029] Em uma concretização do processo, a etapa “b” ocorre por um período entre 8 e 24 horas e com uma relação de biomassa/água de pelo menos 1/40 até 3/40.

[0030] Em uma concretização do processo, o solvente da etapa “d” é selecionado do grupo de água, metanol, acetona e acetato de etila, puros ou em diferentes proporções entre si, nos volumes de 5 a 50 ml.

[0031] Em um segundo aspecto, a presente invenção define uma formulação farmacêutica compreendendo:

- a biomassa ou pelo menos um extrato vegetal;
- pelo menos um solubilizante;
- pelo menos uma base líquida ou semissólida; e
- pelo menos um conservante.

[0032] Em uma concretização da formulação, o dito extrato vegetal contém compostos fenólicos.

[0033] Em uma concretização da formulação, o dito extrato vegetal contém ácidos fenólicos provenientes da microalga *Pediastrum boryanum*.

[0034] Em uma concretização da formulação, o extrato vegetal proveniente da microalga *Pediastrum boryanum* é obtido pelo processo definido acima.

[0035] Em uma concretização da formulação, a proporção de biomassa ou extrato de *P. boryanum* está compreendida entre 0,01 e 99,0%.

[0036] Em uma concretização da formulação, o solubilizante está na concentração entre 3% p/p a 20% p/p e ser selecionado do grupo de água, álcoois, metanol, propilenoglicol, polietilenoglicóis, polissorbatos, óleos vegetais, minerais ou sintéticos ou triglicerídeos de cadeia média.

[0037] Em uma concretização da formulação, os conservantes estão na concentração entre 0,01% p/p a 1,0% p/p. e são selecionados do grupo de parabens, imidazolidinil ureia, quatérnio 15, álcool benzílico, ácido benzoico, ácido sórbico, hidroxitoluenobutilado, ácido etilenodiamino tetra-acético, ácido dehidroacético, benzoato de sódio ou sorbato de potássio.

[0038] Em uma concretização, a formulação compreende adicionalmente pelo menos um agente gelificante selecionado do grupo de derivado do ácido acrílico, metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, etilcelulose,

hidroxietilcelulose, hidroximetilcelulose, carboximetilcelulose sódica, goma xantana, goma arábica, goma guar, goma adraganta, carragena, alginato ou quitosana na concentração entre 0,1% p/p a 20% p/p.

[0039] Em uma concretização, a formulação compreende adicionalmente pelo menos uma substância hidrofóbica com propriedades emolientes, solubilizantes, emulsificantes ou doadoras de consistência e ser selecionada do grupo de álcoois graxos, ácidos graxos e seus ésteres, bases de origem mineral, como vaselina, e bases de origem animal, como lanolina, na concentração entre 0,1% p/p a 99% p/p.

[0040] Em uma concretização, a formulação compreende adicionalmente silicones, umectantes, polímeros sintéticos e agentes corretores de pH nas concentrações de 0,01% p/p até 15% p/p.

[0041] Em um terceiro aspecto, a presente invenção define um processo de preparo das formulações farmacêuticas compreendendo as etapas de:

- a. dispersar de 0,01% p/p a 99% p/p de Biomassa ou extrato fenólico de *P. boryanum* em 3% p/p a 20% p/p de um solubilizante;
- b. adicionar e misturar um veículo líquido ou semissólido na solução resultante da etapa “a”; e
- c. Adicionar componentes aditivos, em que os ditos componentes aditivos são agentes corretores de pH e umectantes em uma faixa de concentração de 0,01% p/p a 15% p/p.

[0042] Em uma concretização, o dito processo é para preparo de formulações farmacêuticas contendo biomassa ou compostos fenólicos conforme definido acima.

[0043] Em uma concretização do processo, a etapa “b” ocorre utilizando a técnica de espatulação, em formulações com características hidrofóbicas ou mistas, ou por mistura direta, em formulações líquidas ou semissólidas com características hidrofílicas, sendo a mistura ou espatulação realizada até completa homogeneização.

[0044] Em um quarto aspecto, a presente invenção define um uso da formulação conforme definida acima para fins cosméticos ou dermatológicos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e cicatrizantes.

[0045] Outras rotas de administração dos derivados de microalga *Pediastrum boryanum* que não a via tópica também são contempladas na presente invenção, como transdérmica, percutânea, intranasal ou retal. Vias a serem avaliadas a cada caso quando não disponível a via tópica.

[0046] Fica entendido que quando se lê “cosmético” inclui-se, mas não se limita a emulsões, cremes, loções, sabonetes, mascaras, desodorantes corporais, xampu, condicionadores, maquiagem, produtos de banho e agentes dispersores.

[0047] Da mesma forma onde se lê “produto para uso dermatológico” entende-se, mas não se limita a compostos anti-inflamatórios, cicatrizante, agente terapêutico para doenças da pele, cabelos, pelos e unhas. Da mesma forma que não se limita ao uso humano, podendo ser aplicado em animais de pequeno e grande porte.

Exemplos

[0048] Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo sem limitar, o escopo da mesma.

Exemplo I

Processo de extração

[0049] 1) Pesar 1 g de biomassa da microalga e adicionar um pequeno volume (no máx. 5 mL) de água;

[0050] 2) Para encharcar a amostra e favorecer o rompimento da parede da microalga, misturar aos poucos (Pesar 0,2 g e acrescentar 1 mL de água até formar 1g com 5 mL, se necessário colocar em banho de ultrassom) e manter em geladeira overnight;

[0051] 3) Realizar o procedimento para choque-térmico: congelamento em N2 líquido e descongelamento em banho a 40 °C por 3 vezes;

[0052] 4) Adicionar o volume de metanol até completar 40 mL de solvente (40 – volume de água = volume de metanol);

[0053] 5) Colocar na ponta de ultrassom a 62 mHz durante 15 min;

[0054] 6) Realizar a centrifugação a 3.000 RPM a temperatura ambiente por 5 min e reservar o sobrenadante;

[0055] Realizar os passos 2-6 em frasco adequado para centrífuga;

[0056] 7) Transferir o sobrenadante para recipiente adequado, proceder à evaporação do solvente em rotaevaporador selecionando como solvente metanol, na bomba de vácuo para determinação da pressão, e temperatura do banho 40 °C com sistema com água para recirculação a 0 °C;

[0057] Uma vez que o solvente estiver completamente evaporado, no mesmo frasco;

[0058] 8) Adicionar 10 mL de água purificada e manter sob agitação no banho de ultrassom até o conteúdo aderido à parede do frasco se dispersar no líquido;

[0059] 9) Proceder à clarificação com a adição de 5 mL de hidróxido de bário e 5 mL de sulfato de zinco e deixar em repouso durante 20 min

[0060] Transferir para frasco adequado para centrífuga

[0061] 10) Realizar a centrifugação a 3.000 RPM a temperatura ambiente por 5 min e reservar o sobrenadante;

[0062] 11) Filtrar o sobrenadante em sistema de filtração acoplado à bomba de vácuo, utilizando membrana hidrofílica de 0,45 µm, medir o volume de sobrenadante em proveta e transferir para frasco âmbar; e

[0063] 12) Congelar os fracos em pé, com tampa, a -20 °C. Quando congelados, podem ser alocados no freezer -70 °C e liofilizado na sequencia.

Caracterização do extrato:

[0064] Teor de fenólicos totais: 86,4 mg.g⁻¹ de biomassa, representado como ácido gálico.

[0065] O extrato obtido no exemplo 1 foi também caracterizado através da avaliação do perfil cromatográfico por cromatografia líquida e através da identificação dos compostos por espectroscopia de massa.

[0066] A análise por cromatografia líquida identificou um total de 5 ácidos fenólicos nas amostras, os ácidos gálico, protocatecoico, clorogênico, ácido hidroxibenzóico e vanílico, conforme Figura 2. Por sua vez, a varredura da amostra no espectrofotômetro de massas mostrou a presença de estruturas moleculares que correspondem ao peso molecular do ácido gálico (168), o ácido clorogênico (341) e as frações que podem ser o resultado de uma síntese não completa dos compostos esperados ácido protocatecoico (178), ácido vanílico (128) mostrado na Figura 3.

Exemplo 2

Processo de extração

[0067] 1) Pesar 3 g de biomassa da microalga e adicionar um pequeno volume (no máx. 10 mL) de água;

[0068] 2) Para encharcar a amostra e favorecer o rompimento da parede da microalga, misturar aos poucos (Pesar 0,2 g e acrescentar 1 mL de água até formar 3 g com 10 mL, se necessário colocar em banho de ultrassom) e manter em geladeira overnight;

[0069] 3) Realizar o procedimento para choque-térmico: congelamento em N₂ líquido e descongelamento em banho a 40 °C por 3 vezes;

[0070] 4) Adicionar o volume de metanol até completar 40 mL de solvente (40 – volume de água = volume de metanol);

[0071] 5) Colocar na ponta de ultrassom a 62 mHz durante 15 min;

[0072] 6) Realizar a centrifugação a 3.000 RPM a temperatura ambiente por 5 min e reservar o sobrenadante;

[0073] Realizar os passos 2-6 em frasco adequado para centrífuga;

[0074] 7) Transferir o sobrenadante para recipiente adequado, proceder à evaporação do solvente em rotaevaporador selecionando como solvente, na

bomba de vácuo para determinação da pressão, metanol e temperatura do banho 40 °C com sistema com água para recirculação a 0 °C;

[0075] Uma vez que o solvente estiver completamente evaporado, no mesmo frasco:

[0076] 8) Adicionar 10 mL de purificada e manter sob agitação no banho de ultrassom até o conteúdo aderido à parede do frasco se dispersar no líquido;

[0077] 9) Proceder à clarificação com a adição de 5 mL de hidróxido de bário e 5 mL de sulfato de zinco e deixar em repouso durante 20 min;

[0078] Transferir para frasco adequado para centrifuga;

[0079] 10) Realizar a centrifugação a 3.000 RPM a temperatura ambiente por 5 min e reservar o sobrenadante;

[0080] 11) Filtrar o sobrenadante em sistema de filtração acoplado à bomba de vácuo, utilizando membrana hidrofílica de 0,45 µm, medir o volume de sobrenadante em proveta e transferir para frasco âmbar;

[0081] 12) Congelar os fracos em pé, com tampa, a -20 °C. Quando congelados, podem ser alocados no freezer -70 °C e liofilizado na sequencia.

[0082] Solvente metanol 1,5:20 (biomassa:solvente, p/v) 15 min ponta de ultrassom encharque 12h.

Caracterização do extrato:

[0083] Teor de fenólicos totais: 114,3 mg.g⁻¹ de biomassa, representado como ácido gálico.

Exemplo 3 - Obtenção de formulação semissólida hidrofóbica contendo 1% de extrato fenólico de *P. boryanum*

Composição

Fase 1

30 g de lanolina

0,02 g de hidroxitoluenobutilado (BHT)

5 g de vaselina líquida

64,98 g de vaselina branca

Fase 2

[0084] 10 mg de extrato fenólico da microalga *P. boryanum*;

Procedimento

[0085] Para preparo da pomada, primeiramente, a lanolina foi misturada à vaselina branca. O hidroxitoluenobutilado e o extrato fenólico de *P. boryanum* foram solubilizados em vaselina líquida, sendo posteriormente adicionados na mistura de lanolina e vaselina branca. Procedeu-se a espatulação.

Produto obtido

[0086] Pomada Farmacopeica (Brasil, 2010) contendo 1% de extrato fenólico de *P. boryanum*.

Resultados da Caracterização

pH: $6,37 \pm 0,18$

Viscosidade: $1128,33 \pm 118,36$ D/cm²

Teor de fenólicos totais: $350,46 \pm 87,80$ µg/g de pomada, representado como ácido gálico.

Exemplo 4 - Obtenção de formulação semissólida emulsionada contendo 1% de extrato fenólico de *P. boryanum***Composição****Fase 1**

0,1 g de ácido etilenodiamino tetra-acéticolanolina (EDTA)

0,2 g de metilparabeno

0,1 g de propilparabeno

3 g de propilenoglicol

72,95 g de água

Fase 2

6 g de estearato de octila

15 g de álcool cetosteárico

0,05 g de hidroxitoluenobutilado (BHT)

Fase 3

2 g de ciclometicona

0,6 g de solução de imidazolidinil ureia 50%

Fase 4

10 mg de extrato fenólico da microalga *P. boryanum*;

Procedimento

[0087] Para preparo do creme, primeiramente, os parabenos foram solubilizados em 50% do propilenoglicol, sob aquecimento. A solução de parabenos e o EDTA foram então adicionados na água e levados a aquecimento até 75°C, sob agitação constante, constituindo assim a fase aquosa da emulsão. Em geral, o estearato de octila, o álcool cetosteárico e o BHT, foram também aquecidos a 75°C utilizando banho-maria, constituindo assim a fase oleosa da emulsão. A fase aquosa foi vertida sob a fase oleosa, com vigorosa agitação. Agitou-se por 10 minutos. No creme pronto adicionou-se a mistura de ciclometicona com solução de imidazolidinil ureia. Homogeneizou-se. Por fim, o extrato foi solubilizado no restante de propilenoglicol e misturado ao creme.

Produto obtido

[0088] Creme Farmacopeico (Brasil, 2010) contendo 1% de extrato fenólico de *P. boryanum*.

Resultados da Caracterização:

pH: 5,93 ± 0,15

Viscosidade: 605,00 ± 7,29 D/cm²

Teor de fenólicos totais: 470,46 ± 42,80 µg/g de creme, representado como ácido gálico.

Exemplo 5- Obtenção de formulação semissólida hidrofílica aniônica contendo 1% de extrato fenólico de *P. boryanum*

Composição

Fase 1

1,0 g de carbopol 980

93,45 g de água

Fase 2

0,05 g de ácido etilenodiamino tetra-acétilanolina (EDTA)

5 g de propilenoglicol

0,5 g de solução de imidazolidinil ureia 50%

Fase 3

Quantidade suficiente de trietanolamina para ajuste de pH 6,5-7,0

Fase 4

10 mg de extrato fenólico de *P. boryanum*

Procedimento

[0089] Para preparo do gel aniônico, primeiramente, solubilizou-se o EDTA em 50% do propilenoglicol. Nesta solução, adicionou-se a água, previamente misturada à solução de imidazolidiniluréia 50%. Acrescentou-se o carbopol sob agitação. Após total intumescimento do carbopol, neutralizou-se a solução com trietanolamina até ajuste do pH próximo a 6,5. Por fim, o extrato foi solubilizado no restante de propilenoglicol e misturado ao gel.

Produto obtido:

Gel Farmacopeico (Brasil, 2010) contendo 1% de extrato fenólico de *P. boryanum*.

Resultados da Caracterização:

pH: $6,45 \pm 0,05$

Viscosidade: $2465,67 \pm 7,36 \text{ D/cm}^2$

Teor de fenólicos totais: $547,50 \pm 36,64 \text{ } \mu\text{g/g}$ de gel aniônico, representado como ácido gálico.

Exemplo 6 - Obtenção de formulação semissólida hidrofílica não-iônica contendo 7% de extrato fenólico de *P. boryanum*

Composição

Fase 1

2,5 g de hidroxietilcelulose

3 g de sorbitol

90,8 g de água

Fase 2

- 0,1 g de ácido etilenodiamino tetra-acétilanolina (EDTA)
- 0,2 g de metilparabeno
- 0,1 g de propilparabeno
- 3 g de propilenoglicol
- 0,3 g de solução de imidazolidiniluréia 50%

Fase 3

[0090] 70 mg de extrato fenólico de *P. boryanum*.

Procedimento

[0091] Para preparo do gel não-iônico, O EDTA foi solubilizado na água, sob aquecimento. Após resfriamento, a hidroxietilcelulose e o sorbitol foram adicionados na solução contendo EDTA. Procedeu-se agitação até completo intumescimento da hidroxietilcelulose. Em recipiente separado, solubilizou-se os parabens em 50% do propilenoglicol, sob aquecimento. Adicionou-se a solução de imidazolidinil ureia na solução de parabens, misturou-se, e verteu-se para a solução de hidroxietilcelulose. Homogeneizou-se a mistura. Por fim, o extrato foi solubilizado no restante de propilenoglicol e misturado ao gel.

Produto obtido

Gel Farmacopeico (Brasil, 2010) contendo 7% de extrato fenólico *P. boryanum*.

Resultados da Caracterização:

pH: $6,04 \pm 0,06$

Viscosidade: $688,33 \pm 6,24 \text{ D/cm}^2$

Teor de fenólicos totais: $3,241,84 \pm 363,5 \text{ } \mu\text{g/g}$ de gel não-iônico, representado como ácido gálico.

[0092] Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidas no escopo das reivindicações anexas.

Reivindicações

1. Processo de extração de compostos fenólicos a partir da microalga *Pediastrum boryanum* **caracterizado** por compreender as etapas:

- a. Pesar a biomassa da microalga e adicionar água;
- b. Encharcar a biomassa de *P. boryanum* e misturar aos poucos com água;
- c. Realizar procedimento de choque-térmico;
- d. Adicionar solvente;
- e. Colocar em ponta de ultrassom entre 10 a 20 minutos;
- f. Centrifugar e separar sobrenadante;
- g. Evaporar o solvente do sobrenadante;
- h. Adicionar água e manter sob agitação em banho de ultrassom até o conteúdo aderido à parede do frasco se dispersar no líquido;
- i. Clarificar e deixar em repouso;
- j. Transferir para frasco adequado para centrifuga;
- k. Realizar centrifugação;
- l. Filtrar sobrenadante e transferir para recipiente; e
- m. Levar o frasco ao congelador para congelar a amostra.

2. Processo de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por compreender adicionalmente pelo menos uma etapa de preparar a biomassa antes da etapa “a”, em que a dita etapa de preparar a biomassa compreende as etapas de:

- Cultivo da microalga *P. boryanum* em meio adicionado de nutrientes BG11 modificado adicionado de 4 g.L⁻¹ de NaHCO₃ até alcançar a fase estacionária de crescimento.
- Centrifugação das células e nutrientes;
- Coleta dos sedimentos;
- Secagem dos sedimentos por liofilização; e
- Geração de massa seca denominada de Biomassa.

3. Processo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizado** pela etapa “b” ocorrer por um período entre 8 e 24 horas e com uma relação de biomassa/água de pelo menos 1/40 até 3/40.

4. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo solvente da etapa “d” ser selecionado do grupo de água, metanol, acetona e acetato de etila, puros ou em diferentes proporções entre si, nos volumes de 5 a 50 ml.

5. Formulação farmacêutica, **caracterizada** por compreender:

- a biomassa ou pelo menos um extrato vegetal;
- pelo menos um solubilizante;
- pelo menos uma base líquida ou semissólida; e
- pelo menos um conservante.

6. Formulação de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo extrato vegetal conter compostos fenólicos.

7. Formulação de acordo com a reivindicação 5 ou 6, **caracterizada** pelo extrato vegetal conter polifenóis provenientes da microalga *Pediastrum boryanum*.

8. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 7, **caracterizada** pelo extrato vegetal proveniente da microalga *Pediastrum boryanum* ser obtido pelo processo conforme definido na reivindicação 1.

9. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 8, **caracterizada** pela proporção de biomassa ou extrato de *P. boryanum* estar compreendida entre 0,01 e 99,0%.

10. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 9, **caracterizada** pelo solubilizante estar na concentração entre 3% p/p a 20% p/p e ser selecionado do grupo de água, álcoois, metanol, propilenoglicol, polietilenoglicóis, polissorbatos, óleos vegetais, minerais ou sintéticos ou triglicerídeos de cadeia média.

11. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 10, **caracterizada** pelos conservantes estarem na concentração entre 0,01% p/p a

1,0% p/p. e ser selecionado do grupo de parabenos, imidazolidinil ureia, quatérnio 15, álcool benzílico, ácido benzoico, ácido sórbico, hidroxitoluenobutilado, ácido etilenodiamino tetra-acético, ácido dehidroacético, benzoato de sódio ou sorbato de potássio.

12. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 11, **caracterizada** por compreender adicionalmente pelo menos um agente gelificante selecionado do grupo de derivado do ácido acrílico, metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, etilcelulose, hidroxietilcelulose, hidroximetilcelulose, carboximetilcelulose sódica, goma xantana, goma arábica, goma guar, goma adraganta, carragena, alginato ou quitosana na concentração entre 0,1% p/p a 20% p/p.

13. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 12, **caracterizada** por compreender adicionalmente pelo menos uma substância hidrofóbica com propriedades emolientes, solubilizantes, emulsificantes ou doadoras de consistência e ser selecionada do grupo de álcoois graxos, ácidos graxos e seus ésteres, bases de origem mineral, como vaselina, e bases de origem animal, como lanolina, na concentração entre 0,1% p/p a 99% p/p.

14. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 13, **caracterizada** por compreender adicionalmente silicones, umectantes, polímeros sintéticos e agentes corretores de pH nas concentrações de 0,01% p/p até 15% p/p.

15. Processo de preparo das formulações farmacêuticas, **caracterizado** por compreender as etapas de:

- a. dispersar 0,01% p/p a 99% p/p de Biomassa ou extrato de *P. boryanum* em 3% p/p a 20% p/p de um solubilizante;
- b. adicionar e misturar um veículo líquido ou semissólido na solução resultante da etapa "a"; e
- c. Adicionar componentes aditivos, em que os ditos componentes aditivos são agentes corretores de pH e umectantes em uma faixa de concentração de 0,01% p/p a 15% p/p.

16. Processo de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pela etapa “b” ocorrer utilizando a técnica de espatulação, em formulações com características hidrofóbicas ou mistas, ou por mistura direta, em formulações líquidas ou semissólidas com características hidrofílicas, sendo a mistura ou espatulação realizada até completa homogeneização.

17. Uso da formulação conforme definida em qualquer uma das reivindicações 5 a 16, **caracterizado** por ser para fins cosméticos ou dermatológicos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e cicatrizantes.

FIGURAS

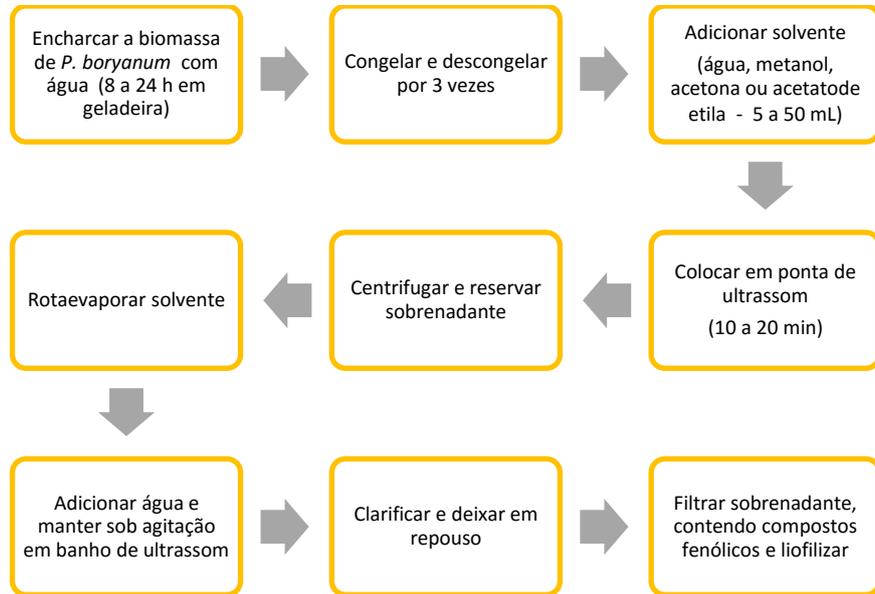


Figura 1

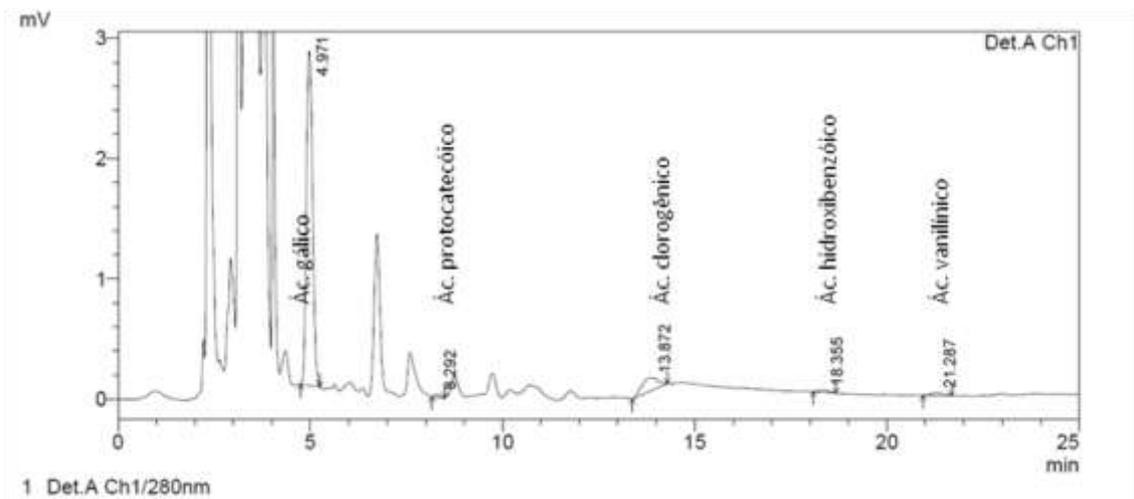


Figura 2

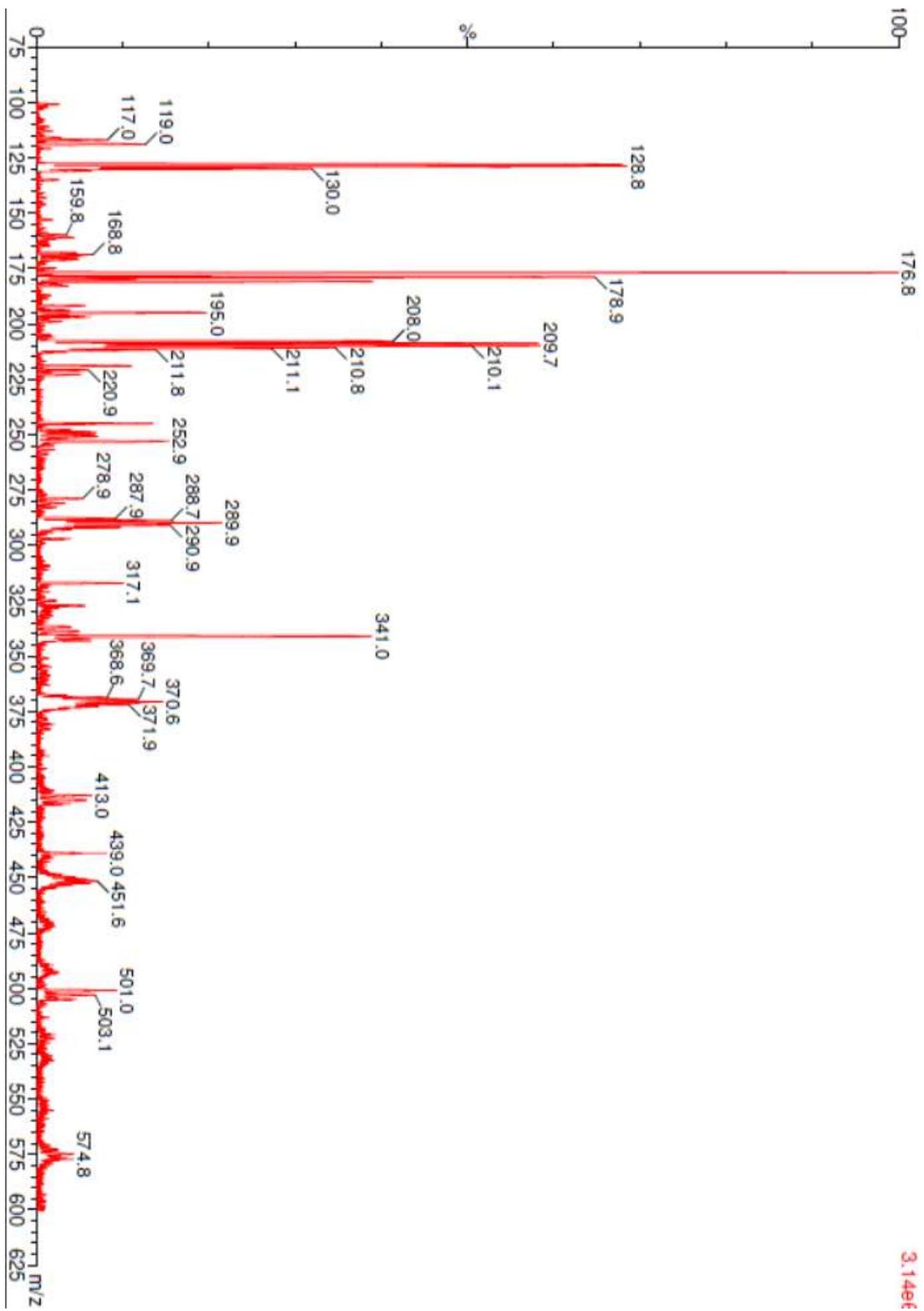


Figura 3

Resumo

PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS A PARTIR DA
MICROALGA *PEDIASTRUM BORYANUM*, FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA,
PROCESSO DE PREPARO DAS FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS E USO DA
FORMULAÇÃO

A presente invenção descreve a utilização de biomassa ou compostos fenólicos extraídos de micro-organismos para formulação de produtos farmacêuticos; Mais especificamente a presente invenção se refere a um Processo de Extração de Compostos Fenólicos a partir da Microalga *Pediastrum boryanum*, um Processo de Preparo de Formulações Farmacêuticas contendo Biomassa ou Compostos Fenólicos, a Formulação Farmacêutica contendo Biomassa ou Compostos Fenólicos e o Uso desta Formulação Farmacêutica para fins Cosméticos ou Dermatológicos. A presente invenção situa nos campos da Farmácia e Química.