

ADRIANE JANE FRANCO

**JACBIO[®]: FORMULAÇÕES DERMOCOSMÉTICAS E/OU
FARMACÊUTICAS À BASE DE *Piptadenia gonoacantha* COM
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E USO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2018

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

F825j
2018

Franco, Adriane Jane, 1973-

JACBIO® : formulações dermocosméticas e/ou
farmacêuticas à base de *Piptadenia gonoacantha* com atividade
antimicrobiana e uso / Adriane Jane Franco. – Viçosa, MG,
2018.

xiii, 44 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Camilo Amaro de Carvalho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 29-35.

1. Agentes anti-infecciosos. 2. Flavonoides. 3. *Piptadenia gonoacantha*. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Medicina e Enfermagem. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. II. Título.

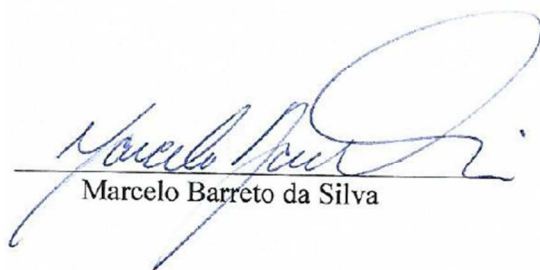
CDD 22. ed. 615.329

ADRIANE JANE FRANCO

**JACBIO[®]: FORMULAÇÕES DERMOCOSMÉTICAS E/OU
FARMACÊUTICAS À BASE DE *Piptadenia gonoacantha* COM
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E USO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Saúde para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 11 de maio de 2018.



Marcelo Barreto da Silva



Paulo César Stringheta



Camilo Amaro de Carvalho
(Orientador)

AGRADECIMENTO

A Deus, pelo dom da vida e estender sobre nós suas bênçãos todos os dias!

Aos meus familiares, por sempre acreditarem e me apoiarem.

À minha filha Júlia Franco Altoé, que sempre foi meu maior incentivo para, a cada dia, crescer na minha profissão e me melhorar como ser humano.

Ao meu marido Vanderlei Altoé, que sempre esteve ao meu lado, me incentivando e me ajudando, quando por vezes o caminho era demasiadamente conturbado e o cansaço abatia.

Ao professor Camilo Amaro de Carvalho, que não foi somente orientador, foi um grande amigo que esteve ao meu lado em momentos de desânimo, almejando sempre que seus orientados obtenham sucesso. Obrigada pelos seus ensinamentos e pela mão amiga sempre me guiando!

Obrigada ao professor Marcelo Barcellos da Rosa, que gentilmente foi nosso parceiro nessa pesquisa.

Obrigada à minha companheira de mestrado Cássia Gondim, que me auxiliou nas análises, sempre solícita e pronta a ajudar. Você foi crucial para a concretização desse trabalho.

Às amigas que ganhei nessa caminhada, Emília, Mirna, Renata e Maria Augusta. Sem dúvida nossos dias foram muito mais animados quando estávamos juntas.

Obrigada à Maria Luiza, Luciana e Mônica, amigas inseparáveis que estiveram ao meu lado nessa caminhada e torcendo por mim.

Obrigada à amiga Lídice Cupertino Ferraz que sempre se fez presente e solícita para ajudar no que fosse preciso para a conclusão desse trabalho.

Agradeço aos técnicos de laboratório da Univiçosa Alexandre Lustosa, Vinícius, Janilson, Vítor, Jeferson, por estarem sempre prontos a ajudar!

A professora Adriana Maria Patarroyo Vargas e professora Renata Diniz, companheiras de trabalho, amigas que sempre estiveram presentes, me apoiando sempre!

À Univiçosa, que sempre nos incentiva a nos aprimorar, além de colaborar com a nossa pesquisa.

Ao Departamento de Medicina e Enfermagem da Universidade Federal de Viçosa, professores e funcionários do Programa de Pós-graduação, por estarem sempre engajados nesse projeto e comprometidos para que tudo desse certo sempre.

À UFV que agora é parte da minha história profissional!

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação foi elaborada de acordo com as normas estabelecidas pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal de Viçosa – UFV. O corpo do trabalho compreende uma introdução geral, objetivos geral e específicos, metodologia, resultados, uma patente e uma conclusão geral. A patente intitulada “Formulações dermocosméticas e/ou farmacêuticas à base de *Piptadenia gonoacantha* com atividade antimicrobiana e uso”.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----|
| LISTA DE SIGLAS | vi |
| LISTA DE FIGURAS | vii |
| LISTA DE TABELAS | ix |
| RESUMO | x |
| ABSTRACT | xii |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. OBJETIVO | 4 |
| 2.1. Objetivo específico | 4 |
| 3. MATEIAL E MÉTODOS | |
| 3.1.Obtenção da planta | 5 |
| 3.2.Processo de Extração | 5 |
| 3.3.Obtenção do Liofilizado | 5 |
| 3.4.Caracterização fitoquímica do extrato | 6 |
| 3.5.Preparo das formulações | 6 |
| 3.6.Avaliação da atividade microbiológica do extrato flavônico e das formulações contendo o extrato de <i>Piptadenia gonoacantha</i> | 7 |
| 3.6.1. Preparo do meio de cultura e das bactérias para a realização do ensaio | 7 |
| 3.7.Análise Estatística | 8 |
| 3.8.Elaboração da patente | 9 |
| 3.9.Avaliação dos custos de equipamentos utilizados no processo de fabricação | 9 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO | |
| 4.1.Obtenção do extrato | 10 |
| 4.2.Caracterização fitoquímica | 10 |
| 4.3.A Avaliação da atividade antibacteriana do extrato flavônico e das formulações contendo o extrato de <i>Piptadenia gonoacantha</i> | 17 |
| 4.4.Patente | 26 |
| 4.5.Custos do processo de produção | 26 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 28 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 29 |
| ANEXO I | 37 |

LISTA DE SIGLAS

CLSI (antigo NCCLS) – Manual Clinical and Laboratory Standards Institute

DPMA – German Patent and Trade Mark Office

EPO – European Patent Office

INPI – Instituto Nacional da Propriedade Industrial

IPO – Intellectual Property Office

OEPM – Oficina Española de Patentes y Marcas

USPTOP – United States Patent and Trademark Office

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Análises espectrofotométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. A. 6-hidroxicumarina e B. Ácido p-cumárico

Figura 2 – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. A. C. Ácido Ferúlico e D. Rutina

Figura 3 – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. E. Quercitrina e F. Apigenina

Figura 4 – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. G - Canferol

Figura 5 – Relação dose resposta de diferentes diluições do extrato de *Piptadenia gonoacantha* frente às cepas: A – *Staphylococcus aureus* (ATCC33591), B – *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) e C – *Staphylococcus epidermidis* (ATCC35984).

Figura 6 – Halos de inibição das formulações contendo o extrato de *Piptadenia gonoacantha* a 20 % e do controle positivo nas cepas de *S.aureus* e *S. epidermidis*

Figura 7 – Atividade antibacteriana das formulações contendo 20 % de extrato flavônico de folhas de *P gonoacantha* (EPJ) por difusão em ágar frente à bactéria *Staphylococcus aureus* (33591). A – PoEx – pomada a 20 % de EPJ; BPo – pomada base sem ativo. B – GelEx – gel a 20% de EPJ; BGel – gel base sem ativo. C – CreEx – creme a 20 % de EPJ; BCre – creme base sem ativo. D – BalEx – bálsamo a 20 % de EPJ, BBal – bálsamo base sem ativo. E – SabEx – sabonete líquido a 20 % de EPJ; BSab – sabonete base sem ativo. Para todas as imagens - EtOH – controle negativo (álcool 80 %). CP – controle positivo (ampicilina 50 mg.mL⁻¹). Ext20 – Extrato de *P. gonoacantha* a 20 % em álcool 80 %.

Figura 8 – Atividade antibacteriana das formulações contendo 20 % de extrato flavônico de folhas de *P gonoacantha* (EPJ) por difusão em ágar frente à bactéria *S. aureus* (292130). A – PoEx – pomada a 20 % de EPJ; BPo – pomada base sem ativo. B – GelEx – gel a 20% de EPJ; BGel – gel base sem ativo. C – CreEx – creme a 20 % de EPJ; BCre – creme base sem ativo. D – BalEx – bálsamo a 20 % de EPJ, BBal – bálsamo base sem ativo. E – SabEx – sabonete líquido a 20 % de EPJ; BSab – sabonete base sem ativo. Para todas as imagens - EtOH – controle negativo (álcool 80 %). CP – controle positivo (ampicilina 50 mg.mL⁻¹). Ext20 – Extrato de *P. gonoacantha* a 20 % em álcool 80 %.

Figura 9 – Atividade antibacteriana das formulações contendo 20 % de extrato flavônico de folhas de *P gonoacantha* (EPJ) por difusão em ágar frente à bactéria *S. epidermidis* (35984). A – PoEx – pomada a 20 % de EPJ; BPo – pomada base sem ativo. B – GelEx – gel a 20% de EPJ; BGel – gel base sem ativo. C – CreEx – creme a 20 % de EPJ;

B_{Cre} – creme base sem ativo. D – Bal_{Ex} – bálsamo a 20 % de EPJ, B_{Bal} – bálsamo base sem ativo. E – Sab_{Ex} – sabonete líquido a 20 % de EPJ; B_{Sab} – sabonete base sem ativo. Para todas as imagens - EtOH – controle negativo (álcool 80 %). CP – controle positivo (ampicilina 50 mg.mL⁻¹). Ext20 – Extrato de *P. gonoacantha* a 20 % em álcool 80 %.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Metabólitos avaliados por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (UPLC-MS/MS) do extrato hidroalcoólico 80% de *P. gonoacantha*.

Tabela 2 – Halo de inibição bacteriana de diferentes concentrações do extrato flavônico de *Piptadenia gonoacantha*.

Tabela 3 – Eficiência relativa ao controle positivo das formulações pomada, gel, creme e bálsamo contendo extrato de *P. gonoacantha* a 20 % (PG).

Tabela 4 – Gastos iniciais para a montagem de um laboratório de produção de extratos de plantas medicinais.

Tabela 5 – Valor de custos de insumos das formulações de pomada, gel, creme, bálsamo e sabonete líquido com extrato de *Piptadenia gonoacantha* a 20 %

RESUMO

FRANCO, Adriane Jane Franco. Universidade Federal de Viçosa, maio de 2018. **JACBIO[®]: Formulações dermocosméticas e/ou farmacêuticas à base de *Piptadenia gonoacantha* com atividade antimicrobiana e uso.** Orientador: Camilo Amaro de Carvalho. Coorientadores: Marilane de Oliveira Fani e Leandro Licursi de Oliveira.

A utilização de extratos de plantas como base na produção de medicamentos fitoterápicos, vem sendo estimulada pela ideia de que vários compostos podem ter ação sinérgica, o que propiciariam o desenvolvimento de biofármacos com atividade equivalente e/ou superior aos fármacos alopáticos, dentre eles os de ação antibiótica. Este trabalho objetivou avaliar fórmulas farmacêuticas com ação antimicrobiana a base de *Piptadenia gonoacantha* servindo de base para o pedido de patente. Após a extração, realizada com álcool 80 % das folhas secas e trituradas desta espécie, o extrato obtido foi submetido à caracterização fitoquímica por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (UPLC-MS/MS). O extrato, em diferentes concentrações, também foi submetido à uma análise de inibição bacteriológica para auxiliar no preparo das fórmulas farmacêuticas, sendo que essas últimas foram submetidas à análise da ação antibacteriana. Os dados obtidos foram utilizados para a elaboração do texto para o pedido de depósito da patente e uma avaliação primária de gastos com equipamentos para montagem de um laboratório para o desenvolvimento e produção dos produtos. O extrato hidroalcoólico de *Piptadenia gonoacantha* apresentou em sua constituição fitoquímica, flavanóides e cumarinas que possuem ação antibacteriana, o que justifica os halos de inibiçãoverificados por meio da avaliação da atividade antibacteriana. As formulações creme, gel, pomada e bálsamoapresentaram halos de inibição frente a cepas de *S. aureus* e *S. epidermides*, com eficiência relativa média, em relação ao controle positivo de 47 % a 99 %. Os melhores resultados foram encontrados para a cepa de *S. epidermides* obtendo-se uma média de 91,5 % de eficiência em relação ao controle positivo. Os dados obtidos permitiram o desenvolvimento e pedido de depósito da patente intitulada “Formulações dermocosméticas e/ou farmacêuticas à base de *Piptadenia gonoacantha* com atividade antimicrobiana e uso” (BR 10 2018 000783 1). A partir dos ensaios foi possível fazer um levantamento dos principais equipamentos e valores atuais de mercado para a implantação de uma linha de produção dos produtos testados. Os resultados deste trabalho poderão levar ao desenvolvimento de novos fármacos ou dermocosméticos, agregando densidade de conhecimento a um produto nacional, aumentando a competitividade do país no cenário global. O objetivo foi

ampliar as possibilidades de recursos terapêuticos de baixo custo destinado ao SUS, para o tratamento de processos infecciosos e inflamatórios cutâneos. Os dados encontrados são de fase pré-clínica e é um direcionamento para a realização de ensaios clínicos.

ABSTRACT

FRANCO, Adriane Jane Franco. Universidade Federal de Viçosa, May, 2018. **JACBIO®: Dermatological and / or pharmaceutical formulations based on *Piptadenia gonoacantha* with antimicrobial activity and use.** Advisor: Camilo Amaro de Carvalho. Co-advisors: Marilane de Oliveira Fani and Leandro Licursi de Oliveira.

The use of plant extracts as a base in the production of herbal medicines has been stimulated by the idea that the several compounds may have synergistic action, which would promote the development of biopharmaceuticals with equivalent and / or superior activity to the allopathic drugs, among the actions antibiotic. This work aimed to evaluate pharmaceutical formulas with antimicrobial action based on *Piptadenia gonoacantha* serving as the basis for the patent application. After extraction with 80% alcohol from the dried and crushed leaves of this species, the extract obtained was submitted to phytochemical characterization by liquid chromatography coupled to mass spectrometry (UPLC-MS / MS). The extract, at different concentrations, was also subjected to a bacteriological inhibition analysis to aid in the preparation of the pharmaceutical formulas, and the latter were submitted to the analysis of the antibacterial action. The data obtained were used to prepare the text for the application for the filing of the patent and a primary evaluation of equipment costs for the assembly of a laboratory for the development and production of the products. The hydroalcoholic extract of *Piptadenia gonoacantha* presented in its phytochemical constitution, flavonoids and coumarins that have antibacterial action, what justifies the halos of inhibition verified through the evaluation of the antibacterial activity. The cream, gel, ointment and balsam formulations also showed inhibition halos against strains of *S. aureus* and *S. epidermidis*, with average relative efficiency, relative to the positive control of 47% to 99%. The best results were found for the strain of *S. epidermidis* obtaining an average of 91.5% of efficiency in relation to the positive control. The data obtained allowed the development and application of the patent entitled "Dermatological and / or pharmaceutical formulations based on *Piptadenia gonoacantha* with antimicrobial activity and use" (BR 10 2018 000783 1). From the tests it was possible to make a survey of the main equipment and current market values for the implementation of a production line of the products tested. The results of this work may lead to the development of new drugs or dermocosmetics, adding knowledge density to a national product, increasing the competitiveness of the country in the global scenario. The objective was to expand the possibilities of low-cost therapeutic resources destined

SUS for the treatment of infectious and inflammatory processes in the skin. The data pre-clinical and is a guide for clinical trials.

esquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal de Viçosa – UFV. O corpo do trabalho compreende uma introdução geral, objetivos geral e específicos, metodologia, resultados, uma patente e uma conclusão geral. A patente intitulada “Formulações dermocosméticas e/ou farmacêuticas à base de *Piptadenia gonoacantha* com atividade antimicrobiana e uso”.

1. INTRODUÇÃO

A história da utilização de plantas medicinais é tão antiga quanto a civilização humana, tratando e curando enfermidades ao longo do tempo e em todas as camadas sociais (BATISTA e VALENÇA, 2012). Essas utilizações das plantas baseadas em conhecimento popular, por vezes, não foram devidamente avaliadas em relação aos seus constituintes, propriedades farmacológicas e toxicológicas (FIRMO et al., 2011).

A busca pelo natural, principalmente na atualidade, pode está relacionada à dificuldade de adquirir produtos sintéticos ou pelos altos custos (BATISTA e VALENÇA, 2012). Outros fatores que influenciam na procura pela terapia tradicional estão, a crescente tendência da população em buscar terapias que se mostram menos agressivas quando comparadas aos medicamentos tradicionais, ou mesmo, pelo fato desse aumento da demanda ter impulsionado as pesquisas no setor que asseguram sua eficácia e segurança (YUNES et al, 2001).

Outro fator que pode influenciar essa busca pela descoberta e desenvolvimento de efeitos farmacológicos pelas plantas seria a resistência bacteriana (DEL FIOLE et al., 2010). A resistência bacteriana aos fármacos, disponíveis para o tratamento clínico, tornou-se um problema de saúde pública em todo mundo (MCGOWAN, 2001). Além disso, o custo financeiro de uma terapia fracassada devido aos microrganismos resistentes é muito grande, onerando ainda mais os sistemas públicos de saúde (DEL FIOLE et al., 2010).

Vários estudos têm sido realizados em diferentes países, para comprovar a eficácia de produtos naturais de origem vegetal, com o objetivo de se obter fontes alternativas ao uso de fármacos obtidos por síntese, dos quais muitos microrganismos já apresentam resistência (DJIPA et al., 2000; FERESIN et al., 2001; KHAN, KIHARA E OMOLOSO, 2001; AKINPELU E ONAKOYA, 2006; CHOPRA, 2007; SILVA et al., 2010; PADILHA et al., 2010; SANTOS et al., 2011; BONELLA et al., 2011; NATALLI et al., 2011; BELINELO et al., 2013).

Portanto, as plantas podem contribuir com a descoberta de novos antibióticos, com a presença de estruturas químicas complexas que promovam interações específicas e reconhecimento por alvos moleculares bacterianos diferindo dos já existentes no mercado (GUIMARÃES, MOMESSO e PUPO, 2010). Desta forma, essa interação sinérgica entre os constituintes das plantas diferem as ações das drogas sintéticas que agem individualmente (HEMAISWARYAA et al., 2008)

Os medicamentos fitoterápicos são caracterizados por serem obtidos a partir de matérias primas ativas vegetais, e sua segurança e eficácia são validadas através de documentações tecnocientíficas em bibliografias e/ou publicações indexadas, estudos

farmacológicos e toxicológicos pré-clínicos e clínicos, não se tratando da utilização de substância ativa isolada (BRASIL, 2014).

De acordo com a legislação brasileira, um novo produto fitoterápico pode ser incluído no mercado sob duas formas: como produto acabado – produzido industrialmente, ou como produto officinal – preparado nas farmácias de manipulação. Ambas as formas devem assegurar a qualidade, segurança e eficácia dos fitoterápicos fornecidos ao consumidor (CEVS, 2016).

Dentre milhares de espécies que compõem nossa flora está a *Piptadenia gonoacantha* (Leguminosae-Mimosoideae), uma espécie arbórea, frequente na Mata Atlântica nas regiões sul e sudeste do Brasil. Popularmente é conhecida com os nomes de pau jacaré, jacaré, casco de jacaré, dentre outros (CARVALHO; 2009). A espécie *Piptadenia gonoacantha* possuir rápido crescimento foliar, é amplamente utilizada em reflorestamentos destinados a recuperação de áreas degradadas e recomposição de áreas de preservação (LORENZI, 2002).

Essa espécie apresenta um bom potencial inibitório do crescimento de microrganismo e ação anti-inflamatória (CARVALHO et al., 2010). Nos ensaios realizados com extrato de *Piptadenia gonoacantha* em diferentes graduações alcoólicas, o extrato em álcool a 80 % mostrou atividade antibacteriana relevante frente à cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), tal atividade poderia estar relacionada aos compostos já detectados na espécie como, por exemplo, metila, vitexina e isovitexina. O autore ressalta que essa espécie vegetal poderia servir como alternativa futura para a elaboração de produtos naturais com atividade antibacteriana (CARVALHO, 2011), gerando produtos inovadores para a saúde.

Inovações são importantes para o desenvolvimento de um país, inclusive aumentando a competitividade internacional em relação a custos e matéria-prima. O reconhecimento dessa importância traz resultados econômicos e melhores níveis de desenvolvimento (MACEDO e BARBOSA, 2000).

A Universidade também se beneficia com o incentivo à invenção, até mesmo com resultados financeiros da exploração do invento. Mas, para ter o direito conferido, é necessária uma patente, que confere proteção às invenções, facilita as parcerias tecnológicas e impede a utilização indevida do conhecimento (MACEDO e BARBOSA, 2000).

Esta pesquisa e inovação é parte integrante de um grande projeto que veem sendo conduzido como uma proposta de parceria entre os Departamentos de Biologia (DBG) e o Departamento de Medicina e Enfermagem (DEM) da Universidade Federal de Viçosa. A

proposta permitiu a continuidade dos trabalhos iniciais de extração, caracterização e purificação dos compostos naturais, bem como a avaliação das atividades biológicas *in vitro* e *in vivo* avaliados em projetos de pesquisa prévios. Pelo fato do extrato de *Piptadenia gonoacantha* (Pau Jacaré), ter apresentado propriedades farmacologicamente ativas e potencial para desenvolvimento de formulações medicamentosas (CARVALHO et al., 2010). Este trabalho teve como objetivo a realização de estudos mais específicos de elucidação cromatográfica dos extratos padronizados da referida espécie, bem como desenvolver formulações dermocosméticas e/ou farmacêuticas acrescidas do extrato, validar os efeitos antibacterianos das formulações. Os dados encontrados servirão de embasamento científico para o pedido de registro das formulações, vislumbrando um novo fitoterápico com potencial antibacterianos e anti-inflamatório, além de proteger a invenção através do pedido de patente.

2 OBJETIVO GERAL

Desenvolver formulações contendo o extrato de *Piptadenia gonoacantha* (Pau Jacaré), caracterizar os componentes fitoquímicos e avaliar a atividade antibacteriana das formulações, com fim de produção de patente.

2.1 Objetivos Específicos

- Obter o extrato hidroalcoólico a partir das folhas de *Piptadenia gonoacantha*;
- Realizar a caracterização fitoquímica do extrato hidroalcoólico obtido a partir das folhas de *Piptadenia gonoacantha*;
- Desenvolver formulações semissólidas a base de extrato hidroalcoólico obtido a partir das folhas de *Piptadenia gonoacantha*;
- Pleitear o registro de uma formulação para uso externo junto aos órgãos competentes;
- Avaliação de custos do processo de produção em pequena e media escala das formulações.
- Registro de patente das formulações a base de *Piptadenia gonoacantha*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção da planta

Foram coletadas folhas da espécie *Piptadenia gonoacantha*, conhecida popularmente como Pau Jacaré, no município de Viçosa, MG, Brasil, latitude 20° 45' 14" S e longitude 42° 52' 55" W, altitude de 648 m. A coleta foi realizada no mês de setembro de 2017, antes da floração que ocorre de janeiro a agosto, em árvores adultas. O material foi identificado e autenticado por comparação com espécies do Horto Botânico da Universidade Federal de Viçosa, onde a espécie testemunho foi depositada (exsicata n° 35530).

3.2. Processo de extração

Os extratos de *Piptadenia gonoacantha* foram obtidos a partir de suas folhas, as quais foram secas em estufa de ar circulante $40 \pm 2^\circ\text{C}$ por 96 horas e trituradas em moinho de facas. O pó obtido e padronizado em tamis de 50 Mesh (0,297 mm de abertura) em que 97 % do pó passam por ele e somente 3 % pelo tamis de 60 Mesh (0,250 mm de abertura).

Para o preparo do extrato foi utilizado o pó das folhas de *Piptadenia gonoacantha* na proporção 1:5 (100 g pó: 500 mL de solução etanol/água 80% v/v com 0,3% ácido cítrico), tal proporção perfaz a concentração de 20 % de extrato seco (m/v). Em seguida, submeteu-se o extrato ao processo de maceração por 72 horas à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, ao abrigo da luz. Posteriormente à filtração a vácuo o filtrado foi reservado, procedendo-se à extração por mais 2 vezes com o resíduo (torta) obtido no funil. Os filtrados foram reunidos ao final do processo em frasco âmbar e liofilizado.

3.3. Obtenção do extrato liofilizado

O extrato flavônico obtido foi submetido ao processo de secagem por liofilização sob pressão de 10^{-1} mbar e temperatura de -60°C . Posteriormente, o extrato liofilizado foi avaliado quanto à sua constituição fitoquímica e incorporado nas formulações.

3.4. Caracterização fitoquímica do extrato

A separação cromatográfica foi realizada utilizando coluna de fase reversa C18 250 x 4,6 mm com pré-coluna de mesma natureza. A análise foi realizada à temperatura ambiente ($\pm 21^\circ\text{C}$), sendo que o modo de eluição isocrático utilizou ácido ortofosfórico (0,1%, m/m) como solvente A e acetonitrila como solvente B. As condições de eluição foram: 80% A e 20%B (0-60 min), com a vazão da fase móvel de $0,8 \text{ ml min}^{-1}$ (0-60min), sendo o comprimento de onda utilizado para leitura de 210 nm. As análises por cromatografia líquida foram acopladas à espectrometria de massas (UPLC-MS/MS), onde foram preparadas na concentração 2000 ppm (massa de planta/volume de solvente), as quais foram diluídas até a concentração 500 ppm (massa de planta/volume de solvente). Os resultados obtidos foram expressos em relação ao LODi (Limite de Detecção do Instrumento) e LOQi (Limite de Quantificação do Instrumento).

Para a análise foram utilizados os seguintes compostos como padrão: ácido gálico, ácido clorogênico, catequina, ácido vanílico, ácido caféico, 6-hidroxicumarina, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, rutina, 4-hidroxicumarina, ácido rosmarínico, quercitrina, miricetina, fisetina, resveratrol, ácido trans-cinâmico, quercetina, luteolina, apigenina, canferol, 3,6-dihidroxi-flavona, crisina e galangina.

3.5. Preparo das formulações

Inicialmente o extrato liofilizado de *P. gonoacantha* foi suspenso em álcool 80 % (v/v), na proporção 1:1 (1 g do pó liofilizado para 1 g de álcool a 80 %). Posteriormente, a solução obtida (50 % - m/v) foi incorporada nas bases farmacêuticas na proporção de 20 % em relação ao extrato liofilizado.

Foram manipuladas cinco bases de diferentes formas farmacêuticas para a incorporação do extrato de *P. gonoacantha*, sendo as mesmas caracterizadas como pomada, gel, creme, bálsamo e sabonete líquido, conforme especificações do Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2012) e Corrêa (2012).

Para o preparo da base pomada foram utilizados os componentes como o álcool cetosteárico 90% e sulfato de cetilesteáril sal sódico 10%, óleo de amêndoas, lanolina etoxilada, vaselina líquida, vaselina sólida, cera de abelha, conservantes e água purificada. A técnica de preparo segue o que é preconizado em literatura, com aquecimento dos componentes até fusão das ceras e após, agitação até o resfriamento (ANVISA, 2012).

A base em gel foi preparada com polímero acrílico, propilenoglicol, ácido etilenodiamino tetra-acético, metilparabeno, imidazolidinil ureia, hidróxido de sódio e água purificada. O polímero foi deixado em repouso na água por 24 (vinte e quatro) horas, até que o polímero estivesse completamente solvatado. Após os demais componentes foram adicionados, sendo o pH acertado para a faixa entre 6,5 a 7,5 que permite a formação do gel (CORRÊA, 2012; ANVISA, 2012).

Já o creme, este possui componentes que são caracterizados por serem de fase oleosa: propilparabeno, álcool cetosteárfico/monoestearato de sorbitano etoxilado, butilhidroxi tolueno, óleo mineral e os de fase aquosa: metilparabeno, propilenoglicol, ácido etilenodiamino tetra-acético e a água que foram aquecidas separadamente a 75 a 80 °C. Após o aquecimento, verteu-se a fase aquosa na fase oleosa com agitação frequente até resfriamento, o componente volátil, o ciclometicone volátil foi adicionado após resfriamento (ANVISA, 2012).

A base bálsamo também possuiu duas fases distintas, portanto os componentes da fase oleosa (butilhidroxitolueno, propilparabeno, óleo de girassol, óleo de copaíba, óleo de rícino hidrogenado etoxilado, e álcool cetosteárfico 90 % e sulfato de cetilestearil sal sódico 10 %) foram aquecidos em banho-maria a 70 °C (± 5 °C), separados dos componentes da fase aquosa (pró-vitamina B5, metilparabeno, triglicérides de ácido cáprico caprílico e a água desmineralizada), que também foi aquecida a 70 °C (± 5 °C) em banho-maria. Os componentes da fase aquosa após o aquecimento foram vertidos sobre os componentes da fase oleosa com agitação constante até o resfriamento.

A base de sabonete líquido foi composta por lauril éter sulfato de sódio, dietanolamina de ácido graxo de coco, ácido etilenodiamino tetra-acético, glicol distearate, cocoamidopropilbetaína, lanolina etoxilada, glicerina, metilparabeno, propilparabeno, ácido cítrico e água desmineralizada, que foram adicionados na sequencia que se apresentam e homogeneizados. A viscosidade da formulação foi ajustada ao final com a adição de cloreto de sódio (CORRÊA, 2012).

3.6. Avaliação da atividade microbiológica do extrato flavônico e das formulações contendo o extrato de *Piptadenia gonoacantha*

Foi realizada a avaliação da atividade microbiológica do extrato de *Piptadenia gonoacantha*, bem como das formulações semissólidas, pomada, gel e cremes; e em formulações líquidas, bálsamo e sabonete líquido contendo o mesmo extrato.

3.6.1 Preparo do meio de cultura e das bactérias para a realização do ensaio

A análise da atividade antibacteriana da espécie *P. gonoacantha* foi realizada através da adaptação do método de difusão em meio sólido com perfuração em ágar. Os microrganismos utilizados no ensaio foram obtidos no Laboratório de Imunoquímica e Glicobiologia da Universidade Federal de Viçosa - MG. Testes foram realizados com o extrato liofilizado nas linhagens: *Staphylococcus aureus* (ATCC33591), *Staphylococcus aureus* (ATCC29213), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC35984), *Escherichia coli* (ATCC 14948), *Bacillus cereus* (ATCC 14579) e *Proteus vulgaris* (ATCC 13315).

Nos ensaios foram utilizados o meio de cultura Mueller-Hinton, preparado segundo as especificações do fabricante. As culturas bacterianas foram mantidas a 4 °C em Mueller-Hinton. Antes dos testes, as linhagens foram repicadas para o meio citado e incubadas a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. A partir de culturas recentes, foram preparadas suspensões bacterianas em solução salina NaCl 0,9 % com turvação equivalente a Escala de McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC)/mL) (NCCLS, 2003). O controle da absorbância destas suspensões de microrganismos foi realizado através das leituras em espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 600 nm.

Posteriormente, 500 µL da suspensão dos microrganismos foram misturados ao meio Mueller-Hinton estéril, em estado líquido (12,5 mL) a 37 °C, sendo em seguida vertidos em placas de Petri estéreis (diâmetro 90 mm). Os poços foram confeccionados utilizando-se uma bomba a vácuo acoplada a uma ponteira estéril previamente adaptada para este fim. Em cada placa foram perfurados poços para aplicação diferentes concentrações do extrato (10 %, 20 %, 30 %, 40 % e 50 %), bem como poços para aplicação do controle positivo (ampicilina 50 mg/mL) e para o controle negativo (etanol 80 %).

Foram depositados 20 µL do extrato, suas diluições e dos controles positivo (ampicilina 50 mg/mL) e negativo (álcool 80 %) nas cavidades correspondentes a cada uma. Após a incubação por 24 horas, em estufa a 37°C, os diâmetros dos halos de inibição foram mensurados em mm, sendo os resultados organizados e descritos.

Para a avaliação da atividade antibacteriana das formulações foram perfurados poços para o produto a ser aplicado (base + extrato), um para o controle positivo (Ampicilina 50 mg/mL), um para o extrato na concentração utilizada na formulação (20 % diluído em álcool), um para o álcool 80 % e outro para o controle negativo (base das formulações sem o extrato de *Piptadenia gonoacantha*). As quantidades depositadas dos controles e dos produtos foram de 20 µL. Após a incubação por 24 horas, em estufa a 37

°C, o diâmetro do halo de inibição foi mensurado em mm, sendo os resultados organizados e descritos.

3.7. Análise estatística

Após as análises os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade, utilizando-se o programa STATA versão 13. Foi realizada a análise descritiva, através da média e desvio padrão para as variáveis quantitativas paramétricas e a apresentação dos dados em tabelas.

3.8. Elaboração da patente

A elaboração da patente iniciou com uma busca nos bancos de dados para verificar há ocorrências no campo técnico relativo ao objeto do pedido, denominada busca de anterioridade. Bancos de dados como INPI, USPTOP, EPO, OEPM, IPO, DPMA e GOOGLE, foram utilizados.

Após a busca, iniciou-se a redação do pedido de depósito de patente, com o auxílio da CPPI/UFV (Comissão Permanente de Propriedade Intelectual da Universidade Federal de Viçosa), segundo as disposições encontradas nas normas vigentes, contendo informações como Campo da Invenção, Estado da Técnica, Descrição da Invenção, Análise dos Resultados e suas reivindicações (SAESP/DIRPA/INPI, 2015). Após a elaboração e correções sugeridas pela CPPI/UFV, o pedido de patente foi depositado junto ao INPI.

3.9. Avaliação dos custos de equipamentos utilizados no processo de fabricação

Visando a produção em pequena e média escala dos extratos a serem utilizados para a produção das formulações e para a produção das mesmas, foi realizado um levantamento dos principais equipamentos e insumos, sendo posteriormente realizado o orçamento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Obtenção do extrato

O extrato de *Piptadenia gonoacantha* em álcool a 80 % foi obtido após o processo maceração do pó da planta seca, sendo que utilização do ácido cítrico se justifica, pois, segundo Novello (2011) a presença do agente acidulante ácido cítrico (0,3%) serviria como conservante dos flavonoides durante o processo de extração.

O rendimento obtido foi de 24,17 % de extrato liofilizado, conforme os cálculos apresentados abaixo:

$$Re = \left(\frac{37,70}{156} \right) \times 100$$
$$Re = 24,17 \%$$

4.2. Caracterização Fitoquímica

Foram identificados a presença de 6-hidroxycumarina, Ácido p-cumárico, ácido felúrico, rutina, quercitrina, apigenina e canferol, em concentrações variáveis (Tabela 1, Figura 1 a 4).

A rutina, um flavanóide da subclasse dos flavonóis (RODRIGUES DA SILVA et al., 2015), foi o composto encontrado em maior concentração, 33,4 mg/mL de extrato. Pode-se observar também, a presença de outros flavanóides como a quercitrina (74, ng/mL) e o canferol (7,6 ng/mL) da subclasse dos flavonóis; além da presença de apigenina (2,2 ng/mL) da subclasse das flavonas.

Tabela 1 – Metabólitos avaliados por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (UPLC-MS/MS) do extrato hidroalcoólico 80% de *P. gonoacantha*.

| Composto | Resultado (ng/mL) | Composto | Resultado (ng/mL) |
|-------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------------|
| Ácido Gálico | < LODi | Quercitrina | 7,4 |
| Ácido Clorogênico | < LODi | Miricetina | < LODi |
| Catequina | < LODi | Fisetina | > LODi < LOQi |
| Ácido Vanílico | < LODi | Resveratrol | < LODi |
| Ácido Caféico | < LODi | Ácido trans-cinâmico | < LODi |
| 6-Hidroxycumarina | 1,9 | Quercetina | < LODi |
| Ácido p-Cumárico | 10,5 | Luteolina | > LODi < LOQi |
| Ácido Ferúlico | 11,6 | Apigenina | 2,2 |
| Rutina | 33,4 | Canferol | 7,6 |
| 4-Hidroxycumarina | < LODi | 3,6-Dihidroxi-flavona | < LODi |
| Ácido Rosmarínico | < LODi | Crisina | < LODi |
| Galangina | < LODi | N/A | N/A |

*LODi – Limite de Detecção, LOQi – Limite de Quantificação, N/A – Não disponível

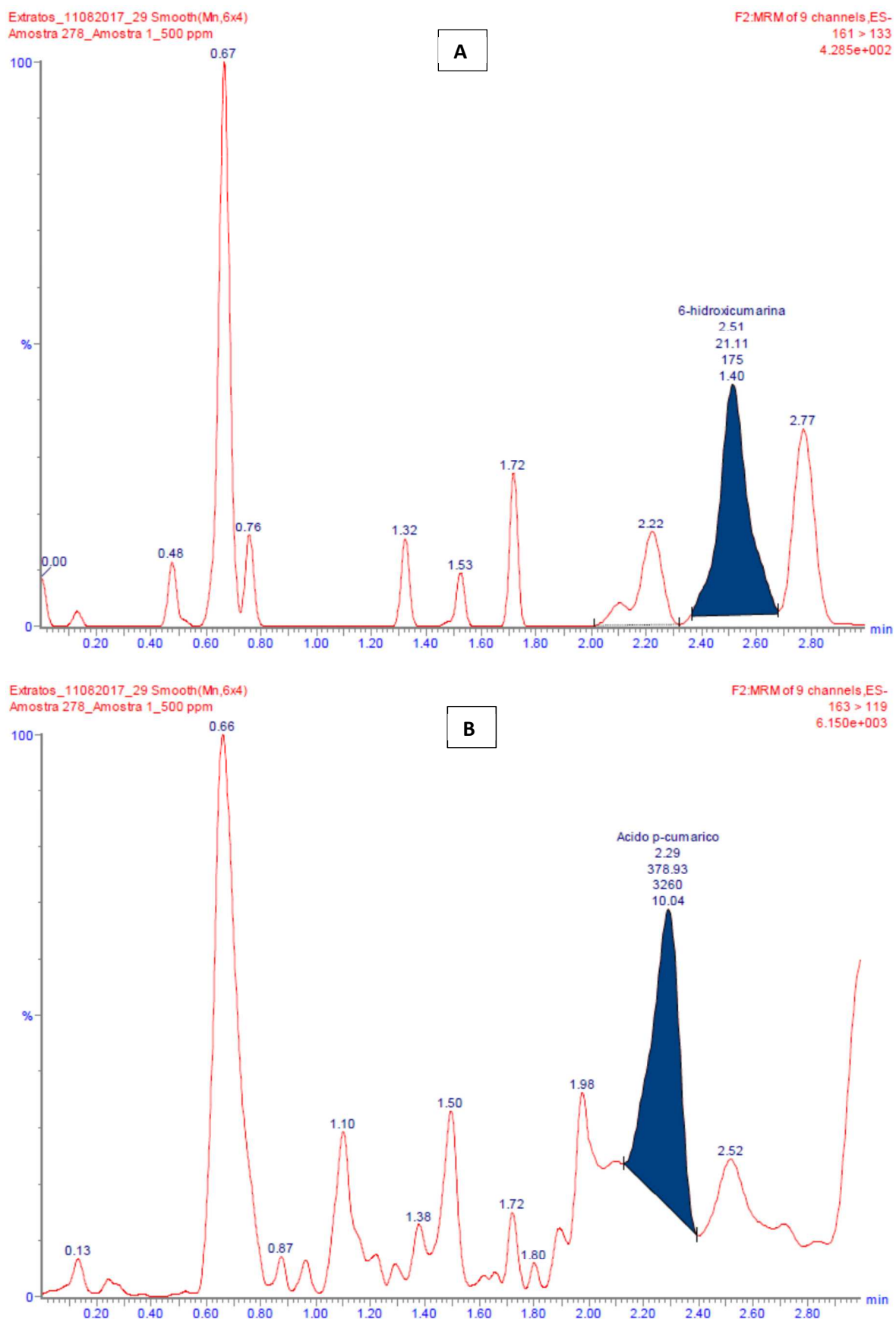


Figura 1 – Análises espectrofotométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. A. 6-hidroxicumarina e B. Ácido p-cumárico

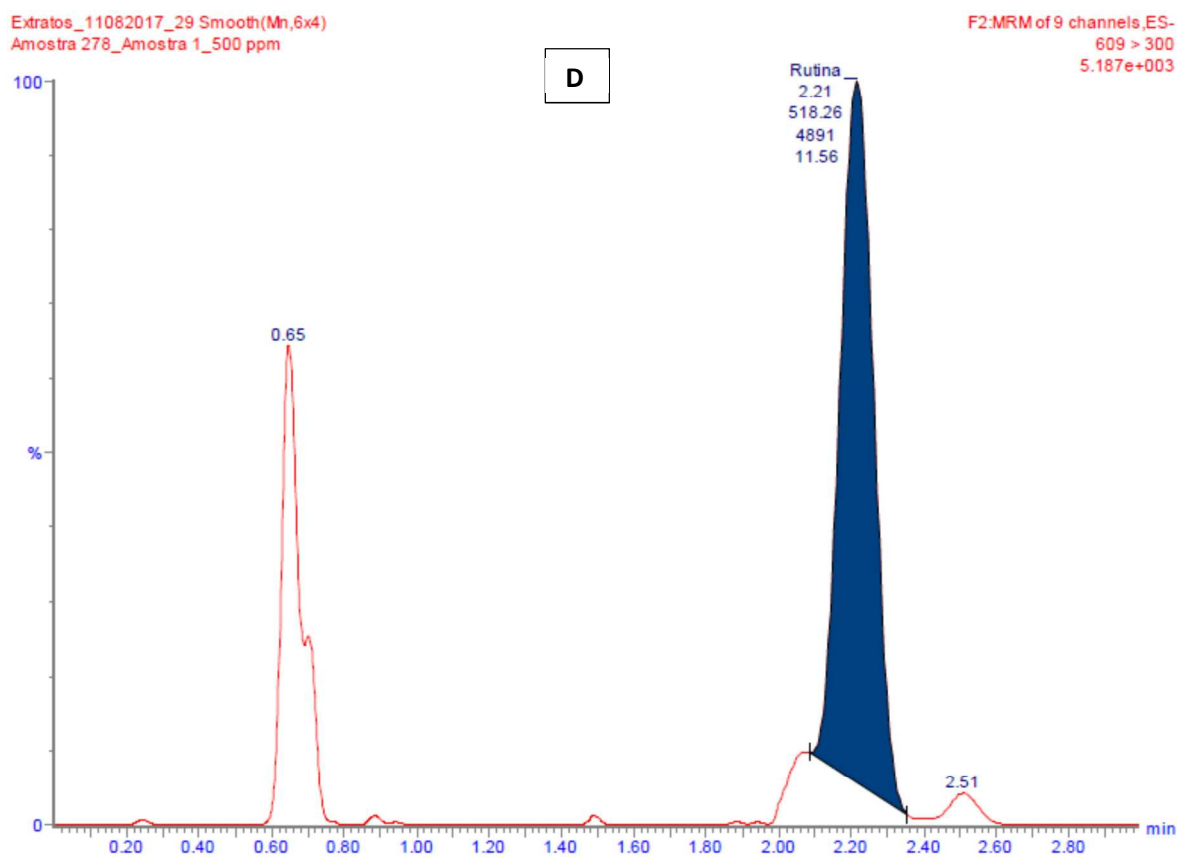
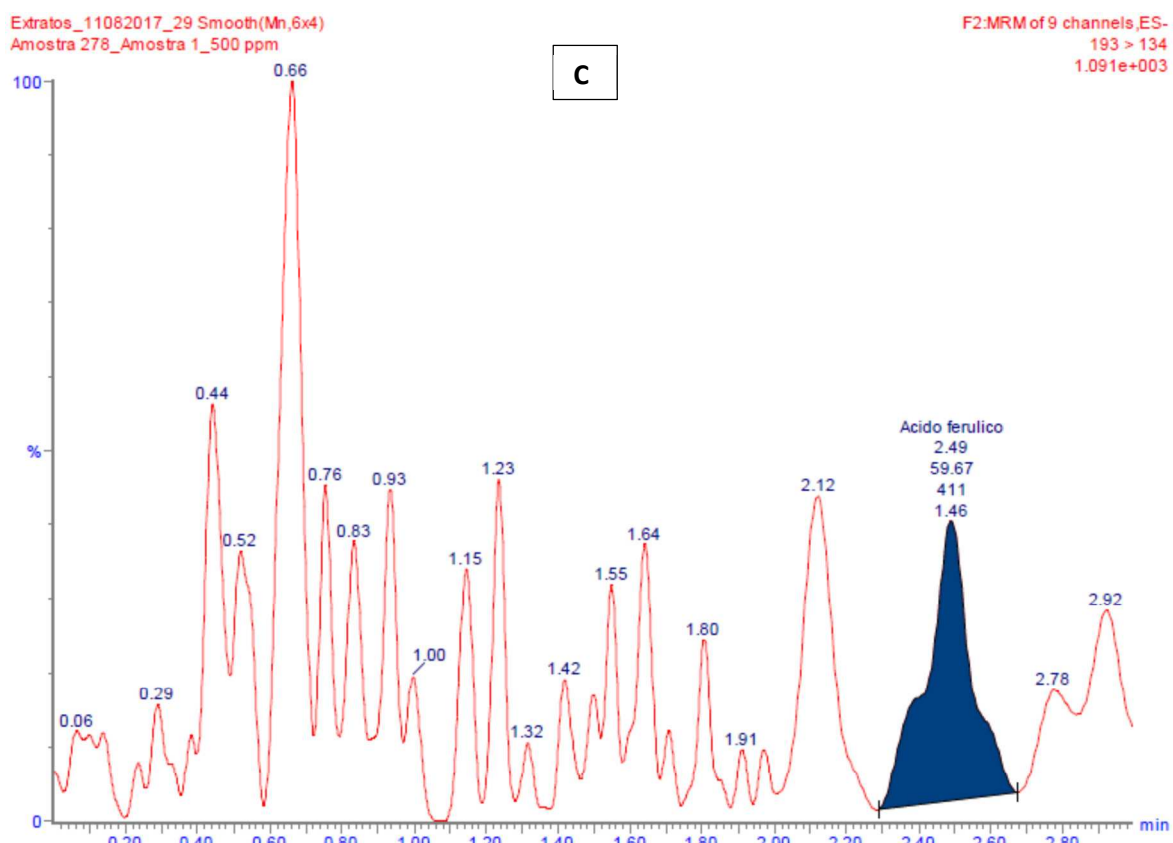


Figura 2 – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. A. C. Ácido Ferúlico e D. Rutina

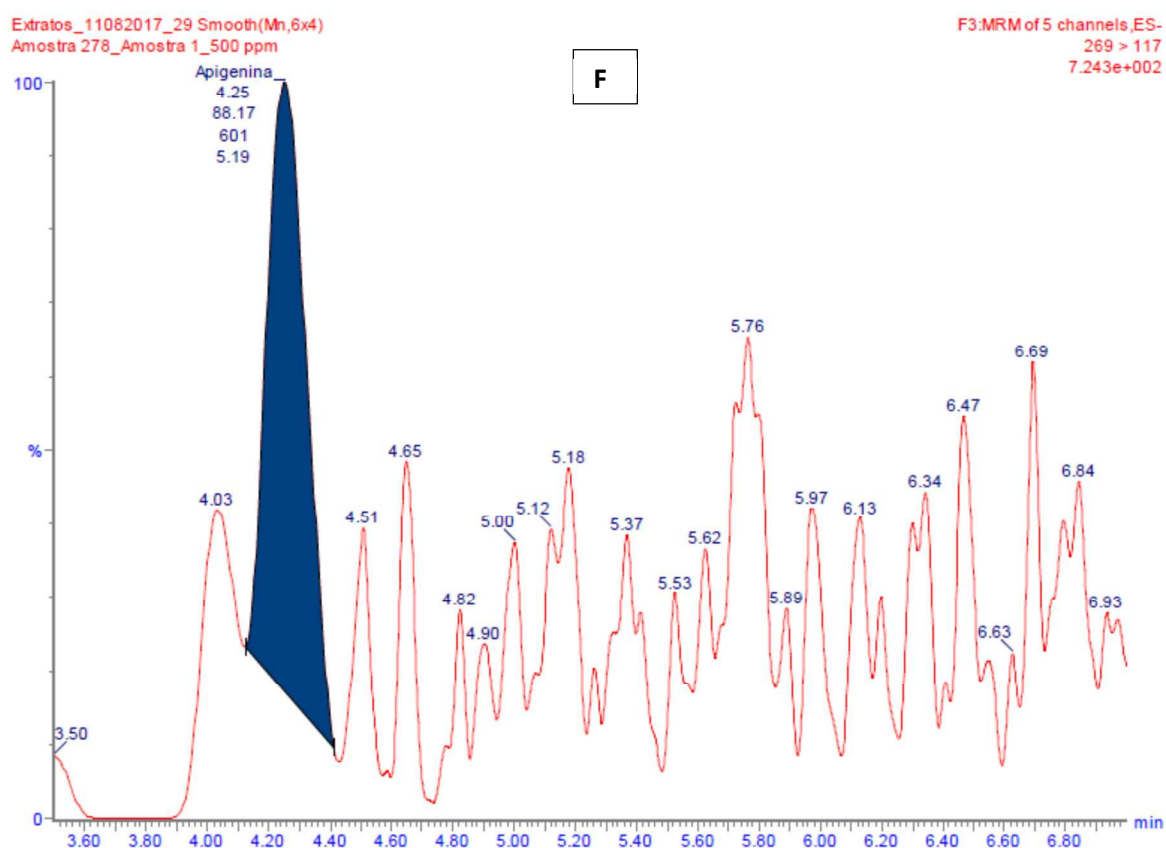
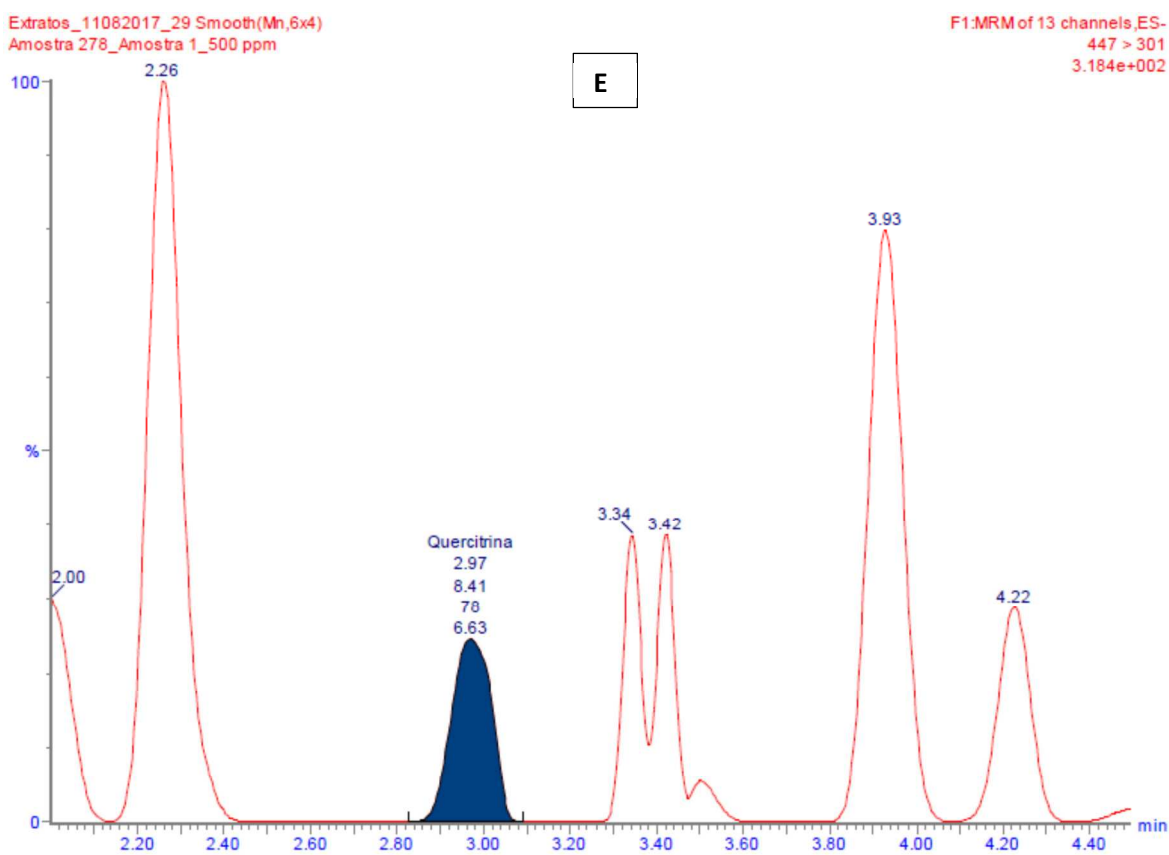


Figura 3 – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. E. Quercitrina e F. Apigenina

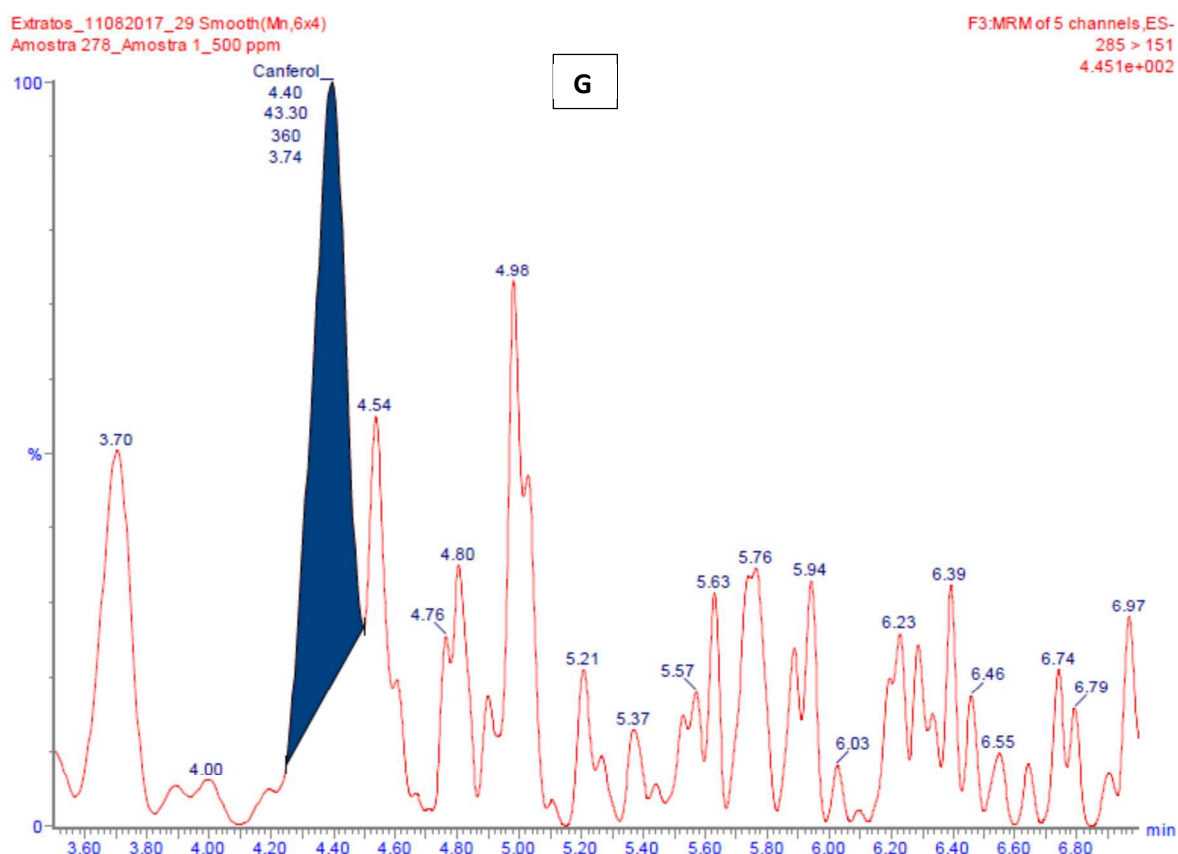


Figura 4 – Análises espectrométricas do extrato de folhas de *Piptadenia gonoacantha*. G - Canferol

Os flavanóides presentes nas plantas desempenham diversas funções, a exemplo da proteção contra as radiações solares, insetos e microorganismos, além de possuir atividade antioxidante (COUTINHO, MUZITANO e COSTA, 2009).

Portanto, a presença dos flavanóides rutina, quercitrina, apigenina e canferol, podem justificar os resultados antimicrobianos obtidos nos testes biológicos *in vitro*.

A rutina é um flavonoide que tem sido relatado por muitos pesquisadores por ser encontrado nas espécies vegetais de grande interesse farmacológico para saúde humana, além de possuir muitas propriedades biológicas, sendo reportado como antialérgico, anti-inflamatório, antitumoral, antibacteriano, propriedades antiplaquetárias, antiespasmódico, antivirais, antiulcerogênico, antidiarreico, vasodilatador, citoprotetora, antihipertensivo, antimutagênico, proteção da lesão hepatocelular e atividade antioxidante pela eliminação de espécies reativas de oxigênio, tais como radical hidroxila (OH^\bullet), ânion radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) e radical peróxido (R-O-O^\bullet) (JANBAZ et al., 2002; CALABRÒ, et al., 2005; CAILLET, et al., 2007; JIANG et al., 2007; YANG et al., 2008; DOMITROVIC et al., 2012; MAHMOUD, 2012; OLIVEIRA, 2015;).

Já a quercitrina tem sido usada como agente antibacteriano (CINCIN et al., 2014), porém estudos mostram que ela não interfere no crescimento bacteriano e sim inibe a

atividade da enzima Sortase A (LIU et al, 2015). A Sortase A (SrtA) é conhecida como “organização domiciliar” das bactérias Gram positivas, está muitas vezes envolvida na patogênese das mesmas. Esta enzima é responsável pela aderência ao tecido, e quando há sua inativação a bactéria fica com a capacidade reduzida de infectar o hospedeiro (MAZMANIAN et al., 2000).

Essa informação reforça a ideia que, o conjunto de substâncias presentes nas plantas pode agir de maneira sinérgica aumentando a ação, neste caso, antibacteriana e por não se tratar de uma substância isolada, dificultaria o processo de adaptação da bactéria a um composto nocivo.

O canferol também é classificado como um flavanóide e, portanto, apresenta atividade antioxidante como a rutina e a quercetina (DORNAS et al, 2007). O canferol também possui atividade antibacteriana frente à bactéria *Stafilococcus aureus*, conforme observado por Resende et al.(2015). Os autores observaram que o efeito antibacteriano do canferol foi superior a outros flavanóides do estudo, como a quercetina, e que esse fato estaria relacionado com o equilíbrio lipofílico da molécula (RESENDE et al., 2015).

Portanto, as diferentes moléculas de flavanóides encontradas na *Piptadenia gonoacantha*, poderiam utilizar mecanismos diferenciados na ação antibacteriana, até mesmo em relação aos fármacos convencionais, o que seria mais uma justificativa para sua utilização em infecções, e até mesmo em pesquisas com bactérias resistentes.

Os derivados das cumarinas, a exemplo da 6-hidroxicumarina presente na *Piptadenia gonoacantha*, apresentam atividades farmacológicas como anti-inflamatória (LEITE et al, 1993) e bactericida (SILVA et al, 2016), além disso, são utilizadas como anticoagulantes (KOSUGE et al., 1985; KO et al., 1989; CHEN et al., 1995) e vasorelaxantes (LEMMICH et al.; 1983).

Os ácidos hidroxicinâmicos, a exemplo de ácido ferúlico e p-cumárico, são compostos fenólicos e estes possuem propriedades antioxidantes e auxiliam nos processos inflamatórios (HRAZDINA, BORZEL, ROBINSON, 1970; OLIVEIRA e BASTOS, 2011). A apigenina, assim como a quercetina, possui ação anti-inflamatória, por diminuir a produção de ácido nítrico ou pela inibição da enzima ciclo-oxigenase (COUTINHO, MUZITANO e COSTA, 2009).

A presença de compostos flavanóides que possuem atividade antimicrobiana no extrato analisado confirmam a propriedade antimicrobiana encontrada nas outras análises de atividade antibacteriana. Além desta atividade, a presença de compostos que possuem atividade anti-inflamatória, rutina, 6-hidroxicumarina e a apigenina, podem ser indicativos que a formulação obtida possua efeito anti-inflamatório.

A resposta imune tem seu papel na defesa contra microorganismo, sendo que na pele, entre outros processos, há a liberação pelos queratinócitos de citocinas que recrutam células inflamatórias e linfócitos (MACHADO et al., 2004). Portanto, a presença dos compostos com atividade anti-inflamatória, no extrato de *Piptadenia gonoacantha*, pode contribuir no processo de restabelecimento de um processo infeccioso.

A presença do canferol e demais flavanoides, que apresentam atividade antioxidante reconhecida, poderiam agregar atividade terapêutica aos produtos obtidos não só em tratamento de infecções ou lesões da pele, mas ser mais uma alternativa para o mercado cosmético como ativos antienvhecimento. Portanto, essas evidências são condições importantes para a realização ensaios *in vivo*, para comprovação de tais efeitos.

4.3. Avaliação da atividade antibacteriana do extrato flavônico e das formulações contendo o extrato de *Piptadenia gonoacantha*.

O extrato liofilizado de *P. gonoacantha* apresentou halos de inibição frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC33591), *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC35984). Na tabela 2 estão dispostos os valores dos halos de inibição em diferentes concentrações do extrato liofilizado. Em relação à cepa *S.aureus* (ATCC33591), não houve diferença estatística entre os tamanhos dos halos de inibição das concentrações de 10 % a 40 %. Para a cepa de *S.aureus* (ATCC29213), não houve diferença entre os halos de 20 % a 50 %, sendo que para essa cepa, os valores encontrados foram superiores ao controle positivo. Na cepa de *S. epidermidis* (ATCC35984), os valores dos halos de inibição também não tiveram diferença estatística nas concentrações de 20 % a 50 %.

Tabela 2 – Halo de inibição bacteriana de diferentes concentrações do extrato flavônico de *Piptadenia gonoacantha*.

| Concentrações do extrato de <i>P. gonoacantha</i> | <i>S. aureus</i> (ATCC33591) | <i>S. aureus</i> (ATCC29213) | <i>S. epidermidis</i> (ATCC35984) |
|---|------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| 5 % | 1,32 ± 0,03 ^E | 1,32 ± 0,06 ^C | 1,43 ± 0,05 ^D |
| 10 % | 1,53 ± 0,03 ^D | 1,43 ± 0,03 ^{BC} | 1,48 ± 0,03 ^D |
| 15 % | 1,52 ± 0,03 ^D | 1,50 ± 0,05 ^{BC} | 1,45 ± 0,06 ^D |
| 20 % | 1,62 ± 0,03 ^{CD} | 1,67 ± 0,03 ^A | 1,62 ± 0,03 ^C |
| 30 % | 1,67 ± 0,03 ^{CD} | 1,72 ± 0,03 ^A | 1,67 ± 0,03 ^{BC} |
| 40 % | 1,68 ± 0,03 ^{CD} | 1,70 ± 0,09 ^A | 1,72 ± 0,03 ^{BC} |
| 50 % | 1,88 ± 0,03 ^B | 1,72 ± 0,03 ^A | 1,78 ± 0,03 ^{BC} |
| C+* | 2,32 ± 0,03 ^A | 1,43 ± 0,02 ^{BC} | 2,13 ± 0,06 ^A |

*C+: Controle Positivo (ampicilina 50 mg/mL) **Médias seguidas por letras iguais na coluna, para cada uma das cepas isoladamente, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Na figura 5 é possível observar a relação entre a dose e resposta das diferentes diluições do extrato de *P. gonoacantha* frente às cepas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.

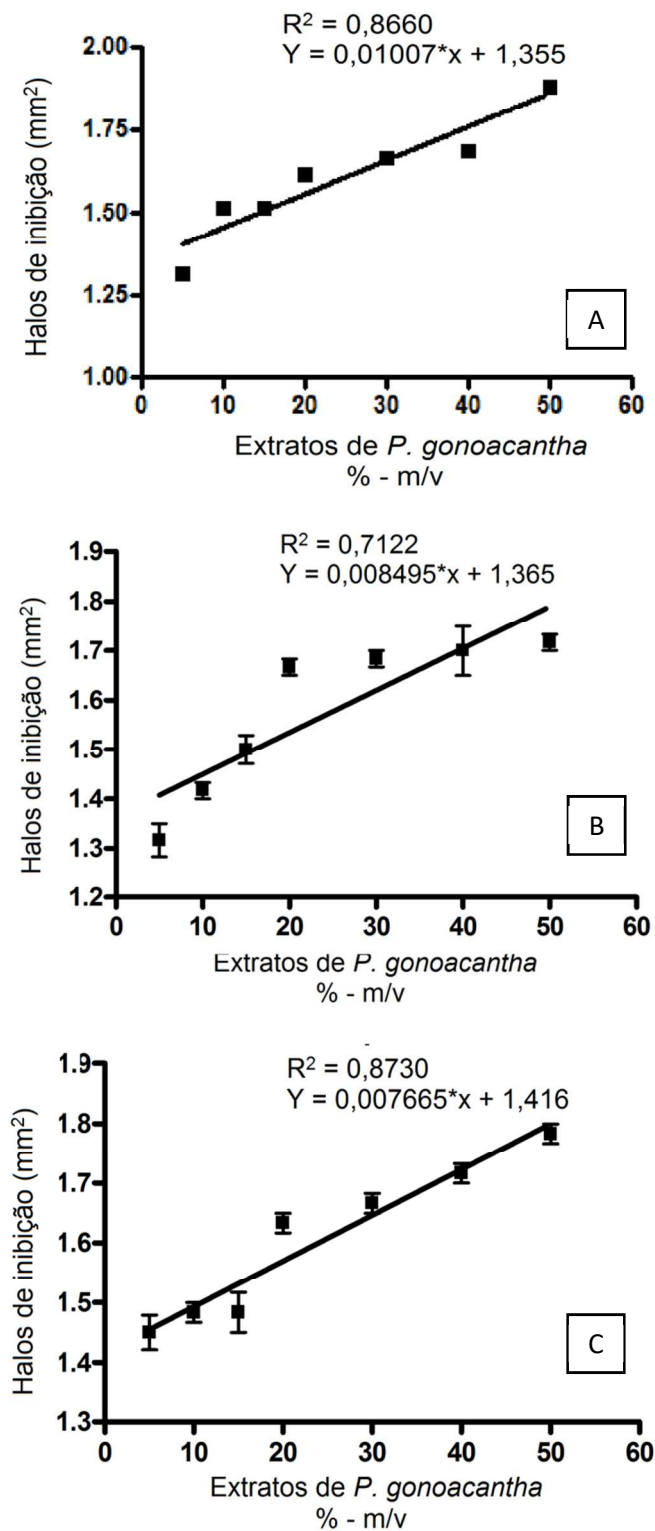


Figura 5 – Relação dose resposta de diferentes diluições do extrato de *Pipitadenia gonoacantha* frente às cepas: A – *Staphylococcus aureus* (ATCC33591), B – *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) e C – *Staphylococcus epidermidis* (ATCC35984).

As formulações pomada, gel, creme, bálsamo e sabonete líquido preparadas com o extrato de *Piptadenia gonoachanta* na concentração de 20 % em relação ao extrato liofilizado, apresentaram atividade antibacteriana frente a cepas de *S. aureus* (ATCC33591), *S. aureus* (ATCC29213) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC35984) (Tabela 2 e Figura 3, 4 e 5). A concentração de 20 % foi a de escolha, por não ter diferido estatisticamente das concentrações superiores que foram avaliadas, além do fato de ser uma concentração que não interferiu farmacotecnicamente na produção das formulações.

As formulações contendo o extrato de *P. gonoacantha* apresentaram halos de inibição frente às três cepas analisadas *S. aureus* (ATCC33591), *S. aureus* (ATCC292130) e *S. epidermidis* (35984) (Figura 6), com eficiência relativa média, em relação ao controle positivo (ampicilina 50 mg/mL), de 47 % a 99 % (Tabela 3).

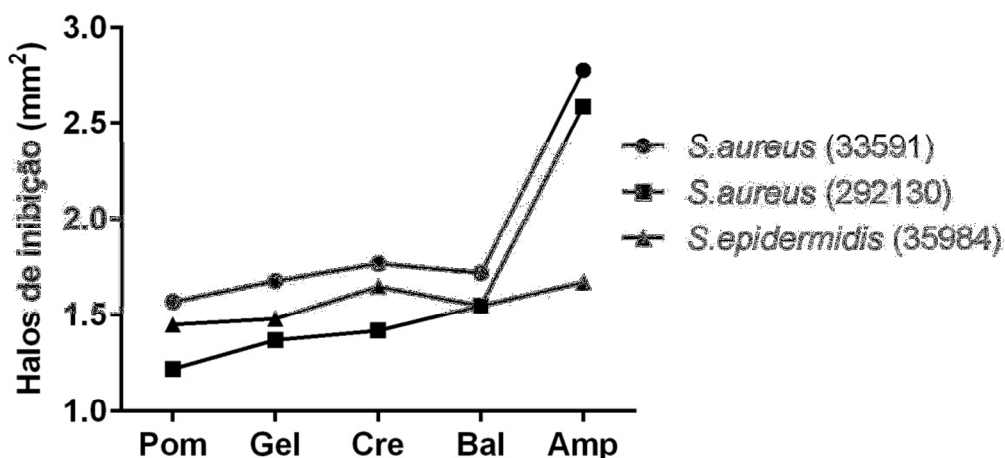


Figura 6 – Halos de inibição das formulações contendo o extrato de *Piptadenia gonoacantha* a 20 % e do controle positivo nas cepas de *S. aureus* e *S. epidermidis*

Tabela 3 – Eficiência relativa ao controle positivo das formulações pomada, gel, creme e bálsamo contendo extrato de *P. gonoacantha* a 20 % (PG).

| | Halo de inibição (cm) | | |
|---|-----------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| | <i>S. aureus</i> (33591) | <i>S. aureus</i> (292130) | <i>S. epidermidis</i> (35984) |
| Pomada | | | |
| Ext. de PG 20 % em álcool 80 % | 2,10 ± 0,06 | 1,40 ± 0,05 | 1,75 ± 0,04 |
| Controle positivo (ampicilina 50 mg/mL) | 2,75 ± 0,06 | 2,60 ± 0,06 | 1,68 ± 0,02 |
| Pomada de PG 20 % | 1,57 ± 0,09 | 1,22 ± 0,02 | 1,45 ± 0,07 |
| % de efetividade da formulação* | 57 % | 47 % | 86 % |
| Controle negativo (álcool 80 %) | 0 | 0 | 0 |
| Base da pomada (sem ativo) | 0 | 0 | 0 |
| Gel | | | |
| Ext. de PG 20 % em álcool 80 % | 1,96 ± 0,05 | 1,40 ± 0,05 | 1,77 ± 0,03 |
| Controle positivo (ampicilina 50 mg/mL) | 2,75 ± 0,05 | 2,65 ± 0,04 | 1,65 ± 0,03 |
| Gel de PG 20 % | 1,68 ± 0,08 | 1,37 ± 0,09** | 1,48 ± 0,02 |
| % de efetividade da formulação* | 61 % | 52 % | 90 % |
| Controle negativo (álcool 80 %) | 0 | 0 | 0 |
| Base do gel (sem ativo) | 0 | 0 | 0 |
| Creme | | | |
| Ext. de PG 20 % em álcool 80 % | 2,15 ± 0,06 | 1,40 ± 0,05 | 1,80 ± 0,04 |
| Controle positivo (ampicilina 50 mg/mL) | 2,80 ± 0,04 | 2,60 ± 0,06 | 1,66 ± 0,02 |
| Creme de PG 20 % | 1,77 ± 0,09 | 1,42 ± 0,08** | 1,65 ± 0,07 |
| % de efetividade da formulação* | 63 % | 55 % | 99 % |
| Controle negativo (álcool 80 %) | 0 | 0 | 0 |
| Base do Creme (sem ativo) | 0 | 0 | 0 |
| Bálsamo | | | |
| Ext. de PG 20 % em álcool 80 % | 2,10 ± 0,06 | 1,36 ± 0,05 | 1,75 ± 0,04 |
| Controle positivo (ampicilina 50 mg/mL) | 2,80 ± 0,05 | 2,50 ± 0,06 | 1,70 ± 0,02 |
| Bálsamo de PG 20 % | 1,72 ± 0,06 | 1,55 ± 0,07 | 1,55 ± 0,07 |
| % de efetividade da formulação* | 61 % | 62 % | 91 % |
| Controle negativo (álcool 80 %) | 0 | 0 | 0 |
| Base do Balsamo (sem ativo) | 0 | 0 | 0 |
| Sabonete líquido | | | |
| Ext. de PG 20 % em álcool 80 % | 2,10 ± 0,06 | 1,40 ± 0,05 | 1,75 ± 0,04 |
| Controle positivo (ampicilina 50 mg/mL) | 2,75 ± 0,06 | 2,60 ± 0,06 | 1,68 ± 0,05 |
| Sabonete líquido de PG 20 % | 1,87 ± 0,09 | 1,43 ± 0,09 | 1,85 ± 0,07 |
| % de efetividade da formulação* | - | - | - |
| Controle negativo (álcool 80 %) | 0 | 0 | 0 |
| Base do sabonete líquido (sem ativo) | 1,13 ± 0,09 | 0,88 ± 0,02 | 1,22 ± 0,03 0 |

* Relação entre o halo de inibição da formulação e o halo de inibição do controle positivo.

** Valores que não diferiram estatisticamente do halo de inibição do extrato de *Piptadenia gonoacantha* a 20 %.

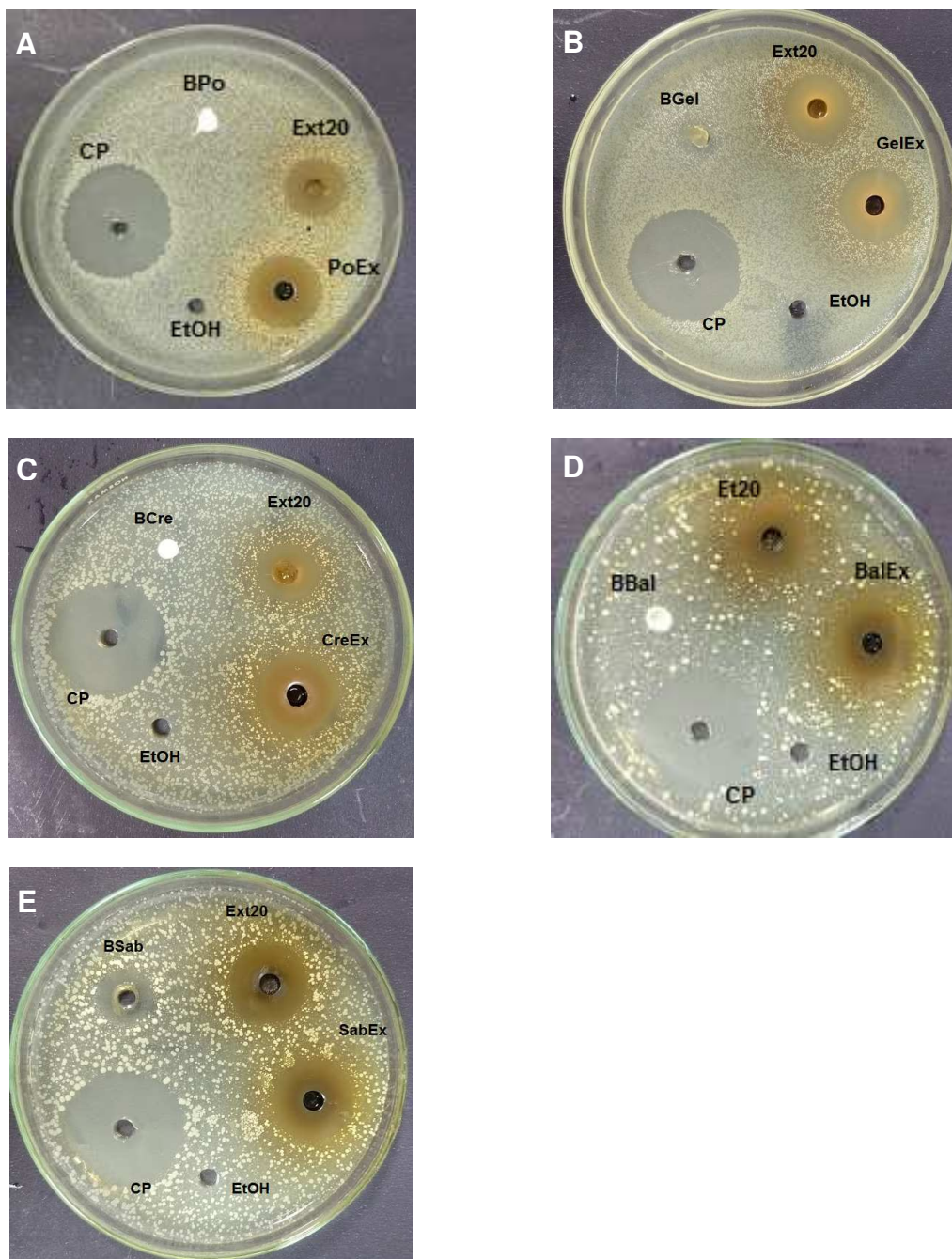


Figura 7 – Atividade antibacteriana das formulações contendo 20 % de extrato flavônico de folhas de *P. gonoacantha* (EPJ) por difusão em ágar frente à bactéria *Staphylococcus aureus* (33591). A – PoEx – pomada a 20 % de EPJ; BPo – pomada base sem ativo. B – GelEx – gel a 20% de EPJ; BGel – gel base sem ativo. C – CreEx – creme a 20 % de EPJ; BCre – creme base sem ativo. D – BalEx – bálsamo a 20 % de EPJ, BBal – bálsamo base sem ativo. E – SabEx – sabonete líquido a 20 % de EPJ; BSab – sabonete base sem ativo. Para todas as imagens - EtOH – controle negativo (álcool 80 %). CP – controle positivo (ampicilina 50 mg.mL⁻¹). Ext20 – Extrato de *P. gonoacantha* a 20 % em álcool 80 %.

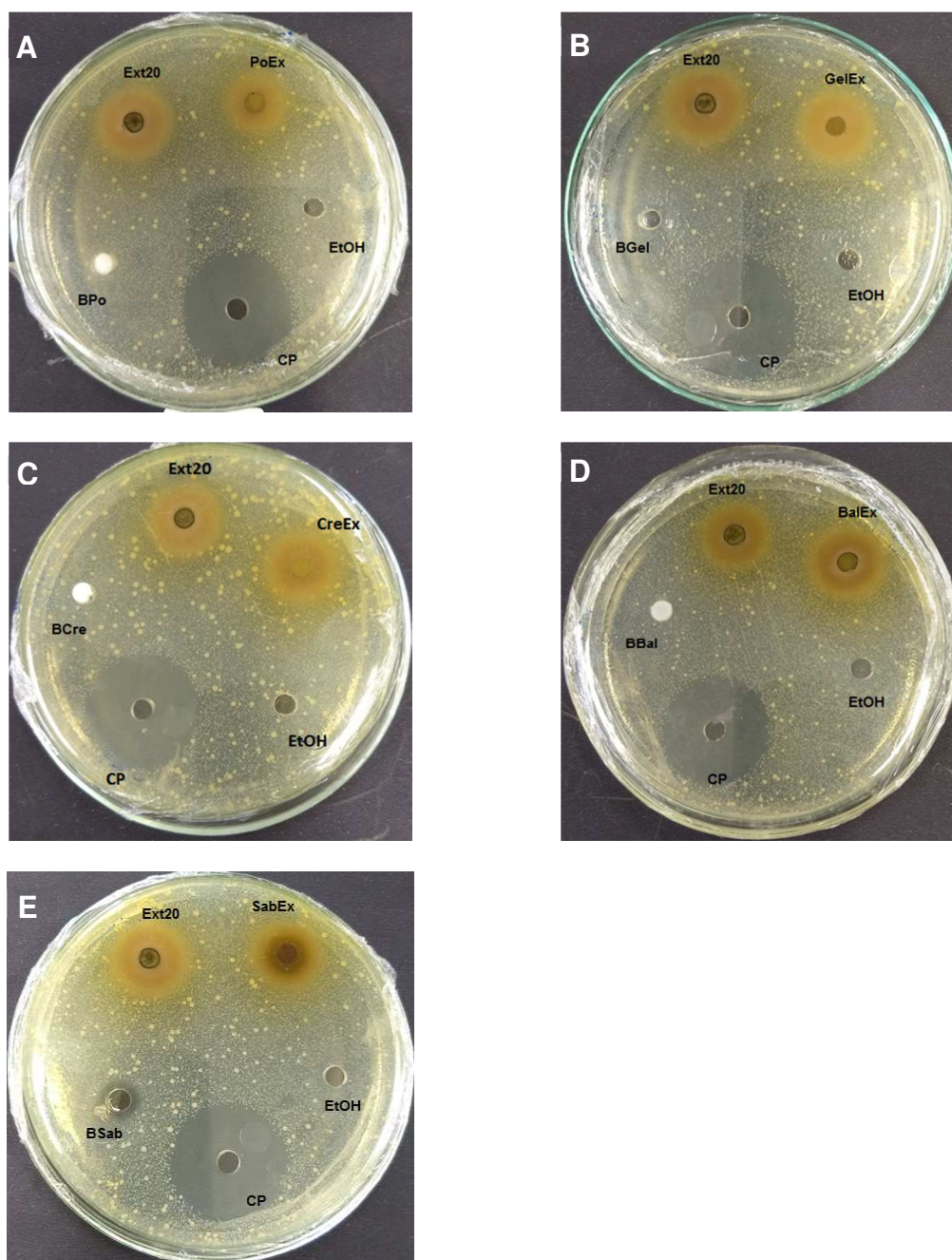


Figura 8 – Atividade antibacteriana das formulações contendo 20 % de extrato flavônico de folhas de *P. gonoacantha* (EPJ) por difusão em ágar frente à bactéria *S. aureus* (292130). A – PoEx – pomada a 20 % de EPJ; BPo – pomada base sem ativo. B – GelEx – gel a 20% de EPJ; BGel – gel base sem ativo. C – CreEx – creme a 20 % de EPJ; BCre – creme base sem ativo. D – BalEx – bálsamo a 20 % de EPJ, BBal – bálsamo base sem ativo. E – SabEx – sabonete líquido a 20 % de EPJ; BSab – sabonete base sem ativo. Para todas as imagens - EtOH – controle negativo (álcool 80 %). CP – controle positivo (ampicilina 50 mg.mL⁻¹). Ext20 – Extrato de *P. gonoacantha* a 20 % em álcool 80 %.

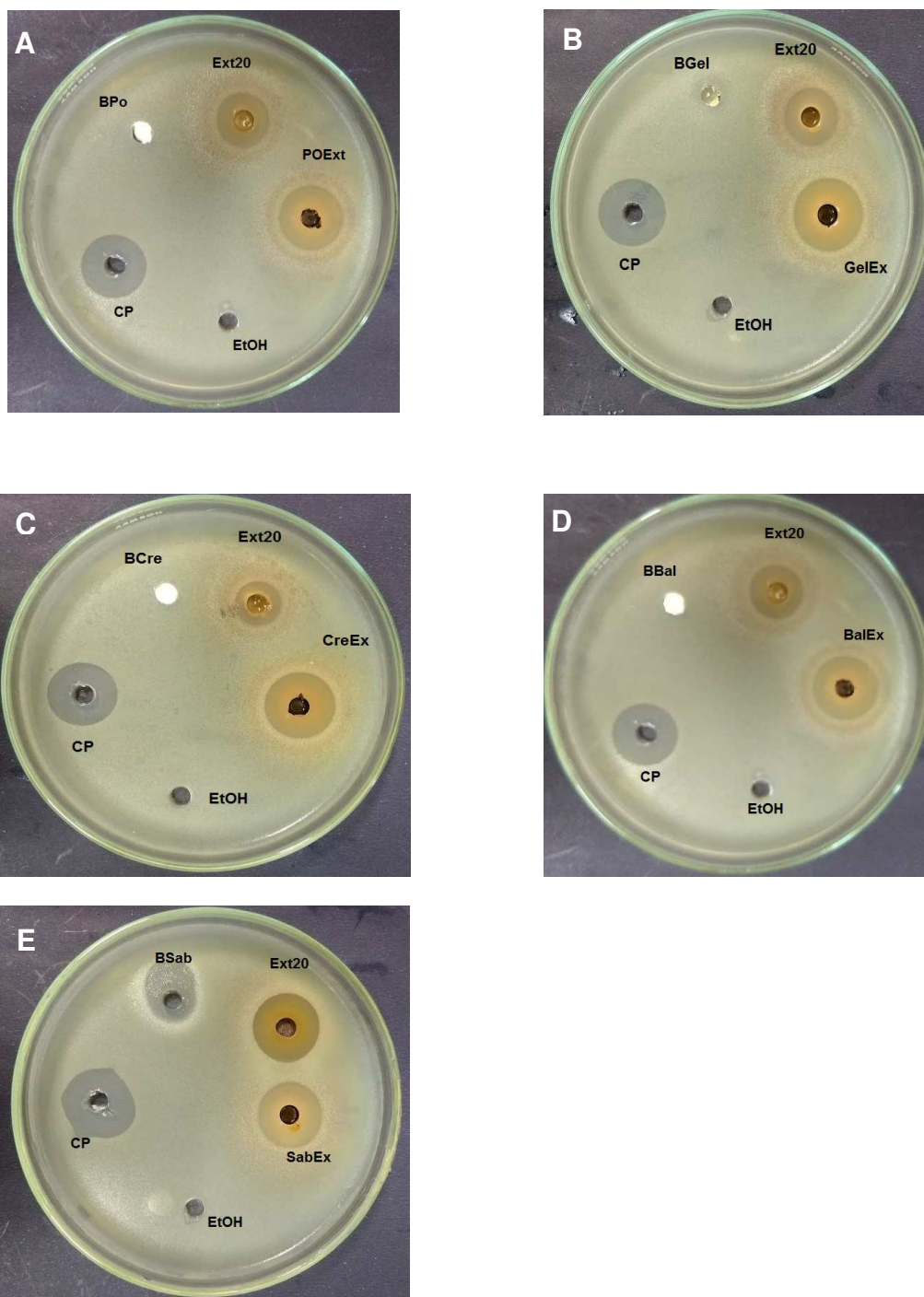


Figura 9 – Atividade antibacteriana das formulações contendo 20 % de extrato flavônico de folhas de *P. gonoacantha* (EPJ) por difusão em ágar frente à bactéria *S. epidermidis* (35984). A – PoEx – pomada a 20 % de EPJ; BPo – pomada base sem ativo. B – GelEx – gel a 20% de EPJ; BGel – gel base sem ativo. C – CreEx – creme a 20 % de EPJ; BCre – creme base sem ativo. D – BalEx – bálsamo a 20 % de EPJ, BBal – bálsamo base sem ativo. E – SabEx – sabonete líquido a 20 % de EPJ; BSab – sabonete base sem ativo. Para todas as imagens - EtOH – controle negativo (álcool 80 %). CP – controle positivo (ampicilina 50 mg.mL⁻¹). Ext20 – Extrato de *P. gonoacantha* a 20 % em álcool 80 %.

No caso da cepa de *S. aureus* (ATCC33591) a média foi de 60,5 %, com excessão da formulação do tipo sabonete líquido que apresentou halo de inibição com a base do sabonete líquido. Entretanto, a adição do extrato não aumentou substancialmente a inibição do crescimento bacteriano.

Para a cepa *S. aureus* (292130), observa-se uma média de 54 % de eficácia das formulações farmacêuticas, com excessão, assim como para a cepa *S. aureus* (ATCC33591), em que a própria base do sabonete líquido mostrou-se ativa contra o microorganismo levando a um discreto aumento desse efeito com a adição do extrato de *Piptadenia gonoacantha*.

O efeito antibacteriano das formulações sobre o *S. epidermidis* (35984) apresentaram-se com maior eficiência em comparação com as cepas de *S. aureus*, obtendo-se uma média de 91,5 % em relação ao controle positivo. No caso do *S. epidermidis*, a formulação farmacêutica base de sabonete líquido apresentou halo de inibição e assim como para as outras bactérias, a adição do extrato também levou a um aumento discreto do halo de inibição.

As formulações na forma farmacêutica pomada apresentaram as menores porcentagens de efetividade em relação ao controle positivo quando comparada às formulações de gel, creme e bálsamo. Possivelmente isso ocorre devido à sua característica altamente lipofílica que dificulta a cedência do fármaco para o meio hidrofílico do ágar (LÜLLMAN, MOHR e HEIN, 2010).

Para o fármaco realizar sua ação terapêutica ele deve sair da preparação farmacêutica e agir na pele. A para uma melhor cedência dos fármacos para a pele, os mesmos devem diferir quanto às características químicas em relação à base, ou seja, um fármaco hidrofílico e uma base lipofílica, a tendência é que o fármaco esteja mais disponível (HEIZN et al., 2010). O esperado era que a pomada tivesse um melhor desempenho, porém as carcterísticas do experimento *in vitro* são diferenciadas quimicamente em relação ao perfil da pele. Portanto, espera-se que a pomada tenha melhor desempenho nos testes *in vivo*. Outra característica importante da pomada que também influencia na atividade *in vivo*, é o fato de que sua natureza lipofílica propicia uma oclusão na derme, aumentando a hidratação no local da aplicação, permitindo uma melhor penetração do fármaco na pele.

As demais formulações mantiveram halos de inibição com valores proximos aos halos do extrato de *P. gonoacantha* na concentração a 20 %, no caso da cepa de *S. aureus* (292130) a formulação gel e creme apresentaram halos de inibição estatisticamente semelhantes.

A formulação em gel, apesar de ter como característica a capacidade de liberar mais facilmente o fármaco quando comparado à pomada e ao creme (LOURENÇO, 2013), não apresentou essa eficiência nas análises realizadas. Provavelmente, isso deve ao fato de que os flavanoides possuem características hidrofílicas assim como o gel, portanto, dificultaria a cedência do fármaco para a derme. Nesses casos, alterações na constituição da formulação adicionando insumos que aumentariam a permeabilidade do fármaco.

Algumas formas de melhorar a permeabilidade do fármaco na pele seria o aumento da hidratação, neste caso as formulações que contém mais substâncias graxas e que são mais oclusivas (WILLIAMS E BARRY, 2012) como o creme, a pomada e o bálsamo, permitiria uma melhor permeação do fármaco. Outra forma seria a adição de álcoois que podem atuar favorecendo a solubilidade do ativo, altera as propriedades de solubilidade do tecido cutâneo, entre outras. O polietilenoglicol seria um exemplo de um álcool que pode ser adicionado às formulações sozinho ou associado, sendo que nesse caso a sua associação ao ácido oleico apresenta um efeito sinérgico sobre a permeabilidade (MARTINS e VEIGA, 2002; WILLIAMS E BARRY, 2012; LANE, 2013).

A formulação do tipo creme foi a que apresentou os melhores resultados, possivelmente pelas características de possuir substâncias graxas em sua composição, que permitem a manutenção da umidade no estrato córneo que auxilia a penetração do fármaco. Há ainda a possibilidade da associação do agente tensoativo, que permita manter o equilíbrio hidro-lipofílico da formulação, solubilizar substâncias lipídicas do estrato córneo favorecendo a permeabilidade (WILLIAMS E BARRY, 2012).

Destacam-se os efeitos das formulações frente à cepa de *S. epidermidis*, principalmente em relação às formulações de gel, creme e bálsamo, que se destacaram em relação ao controle positivo, obtendo um percentual de efetividade superior a 90 %

O ensaio *in vitro* permitiu confirmaram que as formulações produzidas com 20 % do extrato alcoólico de *P. gonoacantha* possuem atividade antibacteriana semelhante ao extrato hidroalcoólico solubilizado na mesma concentração, porém, devido às particularidades de cada veículo houve algumas diferenças de valores entre eles. Cada veículo disponibiliza o fármaco conforme as particularidades químicas de ambos e do meio ao qual foram submetidos.

O fato dos resultados terem sido positivos já são um indicativo que as formulações são passíveis de serem utilizadas futuramente como medicamento para infecções cutâneas. Ainda permite um direcionamento para um estudo de otimização da cedência do fármaco, melhorando assim a atividade terapêutica do mesmo.

O fármaco obtido a partir de um extrato de uma planta traz a possibilidade de um tratamento com um produto que possivelmente é mais seguro e promovem menos reações indesejáveis. Outra possibilidade, que deverá ser melhor avaliada, seria a possibilidade de ação em cepas bacterianas resistentes a outros antibióticos.

4.4. Patente

A patente, após serem efetuadas as correções sugeridas pela CPPI/UFV, foi depositada sob número de protocolo BR 10 2018 000783 1, e título “Formulações dermocosméticas e/ou farmacêuticas à base de *Piptadenia gonoacantha* com atividade antimicrobiana e uso”, conforme ANEXO I, em 15 de janeiro de 2018.

4.5. Custos dos equipamentos e insumos

A produção do extrato etanólico a 80 % de *Piptadenia gonoacantha* requer uma estrutura de baixo custo, que agregado aos produtos finais, permite o desenvolvimento de uma inovação acessível. Dentre os equipamentos utensílios a serem utilizados, descam-se estufa de ar circulante, rotaevaporador, liofilizador, vidrarias e destilador. Para a montagem de um laboratório de produção que atenda uma escala de pequeno a médio porte, a fim de produzir o extrato base para a o desenvolvimento dos produtos, forma listados os gastos iniciais na Tabela 4.

Tabela 4 – Gastos iniciais para a montagem de um laboratório de produção de extratos de plantas medicinais.

| Equipamentos e vidrarias | Valor US\$ |
|---|-------------------|
| Destilador | 1.702,00 |
| Estufa | 1.307,00 |
| Liofilizador | 9499,00 |
| Evaporador rotativo | 2.045,00 |
| Bomba de vácuo | 545,00 |
| Balança analítica | 1937,00 |
| Vidrarias (balão volumétrico, Erlenmeyer, Becker) | 93,13 |
| Espátula | 7,98 |
| Papel kraft e papel filtro | 59,87 |
| Total | 17.195,98 |

Para o preparo das formulações foram somados os gastos com o preparo do extrato, como reagentes e processos, e os gastos com a obtenção da base das formas farmacêuticas de escolha, sendo os mesmos apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Valor de custos de insumos das formulações de pomada, gel, creme, bálsamo e sabonete líquido com extrato de *Piptadenia gonoacantha* a 20 %

| Formulações | Valor 100 g | | Valor de mercado 100 g* | |
|------------------|-------------|------|-------------------------|------|
| | R\$ | US\$ | R\$ | US\$ |
| Pomada | 8,46 | 2,25 | 25,00 | 6,65 |
| Gel | 4,76 | 1,27 | 14,10 | 3,75 |
| Creme | 6,42 | 1,71 | 18,90 | 5,03 |
| Bálsamo | 3,72 | 0,99 | 10,90 | 2,90 |
| Sabonete Líquido | 8,06 | 2,14 | 23,30 | 6,20 |

*O valor de mercado é calculado por meio de software Prisma Five[®] que consideram os custos imbutidos (luz, água, telefone, mão de obra) para a produção.

Para o preparo das formulações são gastos aproximadamente 82,75 g de folhas secas de *Piptadenia gonoacantha*, já que para cada 100 g de formulação são adicionados 20 g de extrato liofilizado e que o rendimento da extração é de 24,17 %.

O fato insumo ativo ser retirado da natureza, de uma árvore com grande porte, amplamente distribuída na mata atlântica, de fácil proliferação, reduz os custos da formulação final. Os cálculos das formulações forem realizados em relação a 100 gramas de produto, porém, normalmente os produtos são comercializados na quantidade de 30 gramas, portanto, os valores para 30 gramas seriam bem inferiores aos produtos disponíveis no mercado farmacêutico. Assim, pode-se afirmar que além da vantagem de ser um produto que agrega a característica de ser obtido a partir de matéria prima de origem vegetal, ainda possui o benefício do baixo custo.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato de *Piptadenia gonoacantha* apresenta em sua constituição química flavanóides que reconhecidamente possuem ação antibacteriana, como exemplo, a rutina e quercetina. Além dessas substâncias, há a 6-hidroxycumarina que possui a mesma atividade, porém está presente em menores concentrações. As formulações acrescidas do extrato de *Piptadenia gonoacantha* também apresentaram atividade antibacteriana semelhante ao extrato e com considerável equivalência aos controles. Os testes realizados também serviram como base para o levantamento de equipamentos e custos dos insumos necessários à produção das formulações testadas para posteriormente implantar uma linha de produção para comercialização.

O desenvolvimento dos produtos propostos aqui, poderá propiciar a substituição de importações de produtos e insumos, agregando densidade de conhecimento a um produto nacional, aumentando a competitividade do país no cenário global, com o objetivo de ampliar as possibilidades de recursos terapêuticos de baixo custo para o tratamento de processos infecciosos e inflamatórios cutâneos.

Os dados encontrados fazem parte da fase não clínica, que são necessários, antes da realização dos ensaios clínicos fase I e II que, por sua vez, encontra-se em fase inicial de desenvolvimento como parte do projeto de pesquisa clínica (Fase I) intitulado por “*Estudo clínico, duplo-cego, controlado, do potencial de irritabilidade e sensibilização cutânea de dois produtos para aplicação na pele*” (CAAE: 85989318.5.0000.5153) aprovado conforme as considerações do CEP/CONEP. A fase clínica faz parte dos próximos passos dessa linha de pesquisa, no intuito de registrar os produtos como grau II e posteriormente comercialização os mesmos. Vale ressaltar que se trata de um produto natural, totalmente desenvolvido com a iniciativa pública e de fácil obtenção o que permite o desenvolvimento de um recurso terapêutico de baixo custo destinado ao SUS, para o tratamento de processos infecciosos e inflamatórios cutâneos.

Além disso, esse estudo serve de estímulo ao empreendedorismo na Universidade Federal de Viçosa, sendo possível promover parcerias entre o setor público e empresas privadas, favorecendo o desenvolvimento econômico do país, bem como dando um retorno à sociedade sobre os investimentos públicos em pesquisa.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKINPELU, D.A.; ONAKOYA, T.M. Antimicrobial activities of medicinal plants used in folklore remedies in south-western Africa. **Afr. J. Trad. CAM.** V. 3, p. 112–114, 2006.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira.** 2ª edição. Brasília, 2012.

BATISTA, L. M.; VALENÇA, A. M. G. A Fitoterapia no Âmbito da Atenção Básica no SUS: Realidades e Perspectivas. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr.** V.12, p. 293-296, 2012

BELINELO, V.J.; TEIXEIRA, A.L.; FERREIRA-ALVES, D.L.; PILÓ-VELOSO, D.; REIS, G.T.; STEFANI, G.M. Síntese de amidas derivadas do ácido 6alfa,7beta-dihidróxivouacapan- 17beta-óico isolado dos frutos de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae). **Rev. bras. plantas med.** V. 2, p. 37–44, 2013.

BONELLA, A.F.; NATALLI, V.D.; CAMIZÃO, L.M.; VIEIRA, F.A.; BELINELO, V.J. Estudo fitoquímico e atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Acanthospermum australe* (loerfl.) kuntze. **Enciclopedia Biosfera.** V. 7, p. 1-7, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Aprova a publicação do Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade. **Diário Oficial da União.** Brasília, D.F., 01 de ago. de 2005. Seção 1, p. 119.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Dispões sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. **Diário Oficial da União.** Brasília, D.F, n. 90, 14 de mai. de 2014. Seção 1, p. 52 a 54.

CAILLET S, YU.H.; LESSARD, S.; LAMOUREUX, G.; AJDUKOVIC, D.; LACROIX, M. Fenton reaction applied for screening natural antioxidants. **Food Chem.** V. 100, p. 542-552, 2007.

CALABRÒ, M.L.; TOMMASINI, S.; DONATO, P.; STANCANELLI, R.; RANERI, D.; CATANIA, S., COSTA, C.; VILLARI, V.; FICARRA, P.; FICARRA, R. The rutin/ β -cyclodextrin interactions in fully aqueous solution: spectroscopic studies and biological assays. **J Pharm Biomed Anal.** V.36, p. 1019-1027, 2005.

CARVALHO, C.A. Histomorfometria de lesões agudas da mucosa gástrica de ratos Wistar induzidas por ácido acetilsalicílico, e os efeitos cicatrizantes do extrato aquoso de repolho (*Brassica oleracea* variedade capitata). 2009. 66 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CARVALHO, M.G. et al. Chemical constituents of *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) J.F. Macbr (pau jacaré). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. Rio de Janeiro, v.82, n.3, p. 561-567, 2010.

CARVALHO, C.A. Caracterização Botânica, Fitoquímica e avaliação da Atividade biológica de extratos de *Piptadenia gonoacantha* (mart.) J.f. macbr (fabaceae). 2011. 71 f. Dissertação (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CEVS. Centro Estadual de Vigilância em Saúde. Esclarecimentos sobre a regulamentação de industrialização, manipulação, comercialização e registros de insumos, de medicamentos fitoterápicos e de produtos tradicionais fitoterápicos.

Intome Técnico nº 007/2016. Disponível em:< <http://www.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201612/27090223-informe-t-icnico-007-2016-vers-co-001.pdf>>. Acesso em: 17 Fev 2017.

CHEN, Y.F.; TSAI, H.Y.; WU, T.S. Antiinflammatory and analgesic activities from roots of *Angelica pubescens*. **Planta Med.** V. 61, p. 2-8, 1995.

CHOPRA, I. The increasing use of silver based products as microbial agents: A useful development or a concern. **J. Antimicrob. Chemother.** V. 59, p 587-590, 2007.

CINCIN, Z.B.; UNLU, M.; KIRAN, B.; BIRELLER, E.S.; BARAN, Y.; CAKMAKOGLU, B. Molecular mechanisms of quercitrin-induced apoptosis in non-small cell lung cancer. **Archives of Medical Research.** V. 45, p. 445-454, 2014

CORRÊA, M.A. **Cosmetologia: Ciência e Técnica**. 1ª edição, ed. Medfarma, São Paulo, 2012.

COUTINHO, M.A.S.; MUZITANO, M.F.; COSTA, S.S; Flavonoides: potenciais agentes terapêuticos para processos inflamatórios. *Rer.Virtual Quím*, nº 3, p. 241-256, Jun 2009. Disponível em:< <http://rvq-sub.s bq.org.br/index.php/rvq/article/viewFile/51/98>> Acesso em: 24 de março de 2018.

DEL FIOL, F.S.; LOPES, L.C.; TOLEDO, M.I.; BARBERATO-FILHO, S. Perfil de prescrições e uso de antibióticos em infecções comunitárias. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** V.43, p.68-72, 2010

DJIPA, C.D.; DELMEE, M.; QUETIN-LECLERCQ, J. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **J Ethnopharmacol.** V. 71, p. 307-313, 2000.

DOMITROVIC, R.; JAKOVAC, H.; VASILJEV MARCHESI, V.; KNEZEVIC, V.S.; CVIJANOVIC, O.; TADIC, Z. Differential hepatoprotective mechanisms of rutin and

- quercetin in CCl₄-intoxicated BALB/cN mice. **Acta Pharmacol Sin.** V.33, p. 1260-1270, 2012.
- DORNAS, W.C; OLIVEIRA, T.T.; RODRIGUE-DAS-DORES, R.G.; SANTOS, A.F.; NAGEM, T.J. Flavanóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Rev. Ciên, Farm. Básica Apl*, v. 28, p. 241-249, 2007. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/view/235/230>. Acesso em: 24 mar 2018.
- FERESIN, G.E.; TAPIA, A.; LOPEZ, S.N.; ZACCHINO, S.A. Antimicrobial activity of plants used in traditional medicine of San Juan province, Argentine. **J Ethnopharmacol.** V. 78, p. 103-107, 2001.
- FIRMO, W.C.A.; MENEZES DE MENEZES, V.J.; PASSOS, C.E.C.; DIAS, C.N.; ALVES, L.P.L.; DIAS, I.C.L.; SANTOS NETO, M.; OLEA, R.S.G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cad.Pesq.** V. 18, p. 90-95, 2011.
- GUIMARÃES, D.O.; MOMESSO, L.S.; PUPO, M.T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Revista Química Nova**, São Paulo. V.33, p.667-679, 2010.
- HEINZ, L.; KLAUS, M.; LUTZ, H. *Farmacologia: texto e atlas*. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- HEMAISWARYAA, S.; KRUTHIVENTI, A.K.; DOBLE, M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. **Phytomedicine.** V. 15, p. 639-652, 2008.
- HRAZDINA, G.; BORZEL, A. J.; ROBINSON, W. B. Studies on the stability of the anthocyanidin-3,5-diglucosides. *Am. J. Enol. Vitic.* V. 21, n. 4, p. 201-204, 1970.
- JANBAZ, K.H.; SAEED, S.A.; GILANI, A.H. Protective effect of rutin on paracetamol- and CCl₄-induced hepatotoxicity in rodents. **Fitoterapia.** V. 73, p.557-563, 2002.
- JIANG P, BURCZYNSKI F, CAMPBELL C, PIERCE G, AUSTRIA JA, BRIGGS CJ. Rutin and flavonoid contents in three buckwheat species *Fagopyrum esculentum*, *F. tataricum*, and *F. homotropicum* and their protective effects against lipid peroxidation. **Food Res Int.** V.40, p.356-364, 2007.
- KHAN, M.R.; KIHARA, A.D.; OMOLOSO, A.D. Antimicrobial activity of *Symplocos cochinchinensis*. **Fitoterapia.** V. 72, p. 825-828, 2001

KO, F.N.; WU, T.S.; LIOU, M.J.; HUANG, T.F.; TENG, C.M. Inhibition of platelet thromboxane formation and phosphoinositides breakdown by osthole from *Angelica pubescens*. **Thromb Haemostasis**. V. 62, p.996-999, 1989.

KOSUGE, T.; YOKATA, M.; SUGIYAMA, K.; YAMAMOTO, T.; MURE, T.; YAMAZAWA, H. Studies on bioactive substances in crude drugs used for arthritic diseases in traditional chinese medicine - 2- Isolation and identification of antiinflammatory and analgesic principle from the root of *Angelica pubescens* Maxim. **Chem. Pharm. Bull.** V. 33, p. 5351-5354, 1985.

LANE, M.E. Skin penetration enhancers. *International Journal of Pharmaceutics*. V.447, p. 12-21, 2013.

LEITE, M. G. R.; SOUZA, C. L.; SILVA, M. A. M.; MOREIRA, L. K. A.; MATOS, F. J. A.; VIANA, G. S. B. Estudo farmacológico comparativo de *Mikania glomerata* Sprengel (guaco), *Justicia pectoralis* Jacq (anador) e *Torresea cearensis* (cumaru). **Rev. Bras. Farm.** V.74, n.1, p.12-15, 1993.

LEMMICH, J.; HAVELUND, S.; THASTRUP, O. Dihydrofurocoumarin glucosides from *Angelica archangelica* and *Angelica silvestris*. **Phytochemistry**. V. 22, p.553-555, 1983.

LIU, B; CHEN, F.; BI, C.; WANG, L.; ZHONG, X.; CAI, H.; DENG, X.; NIU, X.; WANG, D. Quercitrin, an Inhibitor of Sortase A, Interferes with the Adhesion of *Staphylococcal aureus*. **Molecules**. V. 20, p. 6533-6543, 2015.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A.. *Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

LOURENÇO, A.R.N. *Administração tópica de fármacos – das restrições aos desafios*. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. 2013. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas). Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde, Lisboa. Disponível em:

<<http://recil.ulusofona.pt/bitstream/handle/10437/4575/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20de%20ANA%20RITA%20NUNES%20LOUREN%C3%87O%202013.pdf?sequence=1>>.

Acesso em: 01 Jun 2018

LULLMANN, H.; MOHR, K.; HEIN, L. *Farmacologia: texto e atlas*. 6. ed. Porto Alegre (RS): ARTMED, 2010. 397p.

MACEDO, M.F.G., BARBOSA, A.L.F. *Patentes, pesquisa & desenvolvimento: um manual de propriedade intelectual* [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2000. 164 p. Disponível em: <<http://books.scielo.org>>. Acesso em 17 Jan 2017.

MACHADO, P.R.L.; CARVALHO, L.; ARAUJO, M.I.A.S.; CARVALHO, E.M. Mecanismos de resposta imine às infecções. **An. bras. Dermatol.** V.79, p. 647-664, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abd/v79n6/a02v79n6.pdf>>. Acesso em: 31 mai 2018

MAHMOUD, A.M. Influence of rutin on biochemical alterations in hyperammonemia in rats. **Exp Toxicol Pathol.**V.64, p. 783-789, 2012.

MARTINS, M. R.; VEIGA, F. Permeation enhancers in transdermal drug delivery systems: a new application of cyclodextrins. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.** V. 38, p. 33-54, 2002.

MAZMANIAN, S.K.; LIU, G.; JENSEN, E.R.; LENOY, E.; SCHNEEWIND, O. Mutantes de *Staphylococcus aureus* sortase defeituosos na exibição de proteínas de superfície e na patogênese de infecções em animais. **Proceedings da Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos da América.** V. 97, p.5510–5515, 2000.

MCGOWAN, J.E. Economic impact of antimicrobial resistance. **Emerg Infect Dis.** V. 7, p. 286-292, 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2631707/>>. Acesso em 29 Mai 2018.

NATALLI, V.D.; BARCELOS, R.M.; PINTO, A.P.A.; RESENDE, K.M.; BELINELO, V.J. Investigação fitoquímica e atividade antimicrobiana de *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae) **Enciclopedia Biosfera.** V.7, p. 1-9, 2011.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, Approved Standard M7-A6, 2nd ed., 2003

NOVELLO, A.A. Extração de antocianinas dos frutos do açaí da mata atlântica (*Euterpe edulis* Martius) e sua atuação nas atividades antioxidantes e antiaterogênica em camundongos APOE. Tese (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, p. 98. 2011

OLIVEIRA, G.L.S. Capacidade antioxidante celular da rutina frente ao dano oxidativo induzido em linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae*. **Rev Cienc Farm Básica Apl.** v. 36, p. 461-466, 2015. Disponível em: <<http://seer.fcfar.unesp.br/rcfba/index.php/rcfba/article/viewFile/349/168>> Acesso em: 22 Fev. 2018

OLIVEIRA, D.M.; BASTOS, D.H.M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Phenolic Quím. Nova,** v.34, n.6, p. 1051-1056, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422011000600023>>. Acesso em: 24 mar 2018.

PADILHA IQM, PEREIRA AV, RODRIGUES OG, SIQUEIRA-JÚNIOR JP, PEREIRA MSV. Antimicrobial activity of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. From Northeast Brazil against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. **Rev. Bras. Farmacogn.** V. 20, p. 45-47, 2010.

RESENDE, F.A.; NOGUEIRA, L.G.; BAUAB, T.M.; VILEGAS, W.; VARANDA, E.A. Antibacterial potential of flavonoids with diferente hydroxylation patterns. **Eclética Química.** V. 40, p. 173-179, 2015.

RODRIGUES DA SILVA, L.; MARTINS, L.V.; CALOU, I.B.F.; MEIRELES DE DEUS, M.S.; FERREIRA, P.M.P., PERRON, A.P. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicol.** V. 23, p. 36-43, 2015. Disponível em <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-37432015000100004&lng=es&nrm=iso>. Acessado em: 30 mayo 2018.

SAESP/DIRPA/INPI. Serviço de Assuntos Especiais da Diretoria de Patente do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Manual para o Depositante de Patentes. 2015. Disponível em: <<http://www.inpi.gov.br/menu-servicos/patente/arquivos/manual-para-o-depositante-de-patentes.pdf>>. Acessado em: 08 dez 2017

SANTOS, V.L.; SOUZA, M.F.V; BATISTA, L.M.; SILVA, B.A.; LIMA, M.S.; SOUZA, A.M.; BARBOSA, F.C.; CATÃO, R.M.R. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). **Rev. bras. plantas med.** V.13, p. 68-72, 2011.

SILVA, L.L.S.; LIMA, E.O.; NASCIMENTO, S.C.; MOTA, D.L.; SILVA, N.H.; ALMEIDA, E.R.; SILVA, M.G.S. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Dioclea grandiflora* Mart. Ex. Benth, Fabaceae. **Rev. Bras. Farmacogn.** V. 20, p. 208-214, 2010.

SILVA, M.R.; FENIMAN-DE-STEFANO, G.M.M.; SAKAI, O.A.; SEIXAS, F.A.V.; MORITZ, C.M.F. Solubilização da cumarina em meio aquoso e determinação da sua atividade antibacteriana. **Santa Maria**, v. 42, p. 195-201, jul/dez 2016. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/revistasauade/article/view/21975/pdf>> Acessado em: 25 mar 2018.

WILLIAMS, A.C.; BARRY, B. W. Penetration enhancers. **Advanced Drug Delivery Reviews.** V. 64, p. 128-137, 2012.

YANG, J.; GUO, J.; YUAN, J. In vitro antioxidant properties of rutin. **LWT-Food Sci Technol.** V. 41, p. 1060-1066, 2008.

YUNES, R.A.; PEDROSA, R.C.; CECHINEL, F.V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Quim.Nova*. V. 24(1), p. 147-152, 2001

ANEXO I



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2018 000783 1

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 25944455000196

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Órgão Público

Endereço: Campus UFV, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação, sala 04.

Cidade: Vicosã

Estado: MG

CEP: 36570-900

País: Brasil

Telefone: (31) 3899 1421

Fax: (31) 3899 2148

Email: propriedadeintelectual@ufv.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de FORMULAÇÕES DERMOCOSMÉTICAS E/OU FARMACÊUTICAS
Utilidade (54): À BASE DE Piptadenia gonoacantha COM ATIVIDADE

ANTIMICROBIANA E USO.

Resumo: A presente invenção refere-se a formulações à base do extrato flavônico de Piptadenia gonoacantha (Mart.) Macbr., Fabaceae, sinónímia Acacia gonoacantha Mart., Piptadenia vulgaris Benth e Piptadenia communis Benth., com nome popular Angico Jacaré e Pau de Jacaré (REYES, A.E.L., Árvores Úteis: Pau-Jacaré.

Disponível em <http://www.esalq.usp.br/trilhas/uteis/ut03.php> acessado em 16 de out. 2017), com atividade antibacteriana. Essas formulações apresentam-se nas formas semissólidas, pomada, gel e cremes; líquidas, bálsamo e sabonete líquido, com a mesma finalidade antibacteriana.

Figura a publicar: 1

Documentos anexados

| Tipo Anexo | Nome |
|-------------------------------------|---------------------------------|
| Comprovante de pagamento de GRU 200 | Comprovante de pagamento.pdf |
| Procuração | Procuração e DOU Dr. Afonso.pdf |
| Relatório Descritivo | Relatório descritivo .pdf |
| Reivindicação | Reivindicações .pdf |
| Desenho | Figuras .pdf |
| Resumo | Resumo .pdf |

Acesso ao Patrimônio Genético

- Declaração Positiva de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, realizado a partir de 30 de junho de 2000, e que foram cumpridas as determinações da Lei 13.123 de 20 de maio de 2015, informando ainda:

Número da Autorização de A78AAF6

Acesso:

Data da Autorização de Acesso: 10/01/2018

Origem do material genético e do conhecimento tradicional associado, quando for o caso

Município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Declaração de veracidade

- Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

Recibo do Pagador

BANCO DO BRASIL

001-9

00190.00009 02940.916170 10963.211171 9

Nome do Pagador/CPF/CNPJ/Endereço

73860000007000

Sacador/Avalista

| | | | | |
|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|----------------|
| Nosso-Número | Nr. Documento | Data de Vencimento | Valor do Documento | (=) Valor Pago |
| 29409161710963211 | 29409161710963211 | 27/12/2017 | 70,00 | |

Nome do Beneficiário/CPF/CNPJ/Endereço

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUST CPF/CNPJ: 42.521.088.0001-37

PRACA MAUA 7 - 14 ANDAR - SALA 1415 , RIO DE JANEIRO - RJ CEP: 20081240

Agência/Código do Beneficiário

Autenticação Mecânica

BANCO DO BRASIL

001-9

00190.00009 02940.916170 10963.211171 9

Local de Pagamento

PAGÁVEL EM QUALQUER BANCO ATÉ O VENCIMENTO

Data de Vencimento

Nome do Beneficiário/CPF/CNPJ

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUST CPF/CNPJ: 42.521.088.0001-37

Agência/Código do Beneficiário

2234-9 / 333028-1

| | | | | | |
|-------------------|-------------------|-------------|--------|-----------------------|-------------------|
| Data do Documento | Nr. Documento | Espécie DOC | Aceite | Data do Processamento | Nosso-Número |
| 28/11/2017 | 29409161710963211 | DS | N | 28/11/2017 | 29409161710963211 |

| | | | | | |
|-------------------|----------|---------|------------|--------|------------------------|
| Uso do Banco | Carteira | Espécie | Quantidade | xValor | (=) Valor do Documento |
| 29409161710963211 | 17 | R\$ | | | 70,00 |

Informações de Responsabilidade do Beneficiário

A data de vencimento não prevalece sobre o prazo legal.
O pagamento deve ser efetuado antes do protocolo.

(-) Desconto/Abatimento

Órgãos públicos que utilizam o sistema SIAFI devem utilizar o número da GRU n
o campo Número de Referência na emissão do pagamento.

(+) Juros/Multa

(-) Valor Cobrado

Nome do Pagador/CPF/CNPJ/Endereço

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VICOSA CPF/CNPJ: 25944455000196

CAMPUS UFV PRO REITORIA DE PESQUISA E POS GRADUACAO SALA 04 ,

Código de Baixa

Sacador/Avalista

Autenticação Mecânica -

Ficha de Compensação



Petição 870.81000344.96157170963211491735

Terminal 3270 - A - AWWAD519
Arquivo Editar Exibir Comunicação Ações Ajuda

11/12/17 10:35
Seg, 11 de Dez 10:35:26 Reserva

— SIAFI2017-DOCUMENTO-CONSULTA-CONGRU (CONSULTA GUIA DE RECOLHIMENTO DA UNIAO
11/12/17 10:35 USUARIO : CLENILSON
DATA EMISSAO : 05Dez17 TIPO : 1 - PAGAMENTO NUMERO : 2017GR800286
UG/GESTAO EMITENTE : 154051 / 15268 - UNIVERSIDADE FEDERAL DE VICOSA
UG/GESTAO FAVORECIDA : 183038 / 18801 - INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDU
RECOLHEDOR : 154051 GESTAO : 15268
CODIGO RECOLHIMENTO : 72200 - 6 COMPETENCIA: DEZ17 VENCIMENTO: 05Dez17
DOC. ORIGEM: 154051 / 15268 / 2017NP002982 PROCESSO : 17-014371
RECURSO : 1
(=) VALOR DOCUMENTO : 70,00
(-) DESCONTO/ABATIMENTO:
(-) OUTRAS DEDUCOES :
(+) MORA/MULTA :
(+) JUROS/ENCARGOS :
(+) OUTROS ACRESCIMOS :
(=) VALOR TOTAL : 70,00
NOSSO NUMERO/NUMERO REFERENCIA : 00029409161710963211
CODIGO DE BARRAS : 89610000000 0 70000001010 3 95523127220 9 00360640000 4
OBSERVACAO
PAGAMENTO DE PEDIDO NACIONAL DE INVENCAO, MODELO DE UTILIDADE PI11, NOSSO NOME
RO 29409161710963211, PROCESSO 17-014371.
LANCADO POR : 05462190638 - ALDAIR UG : 154051 05Dez2017 09:54
PF1=AJUDA PF3=SAI PF2=DADOS ORC/FIN PF4=ESELHO PF12=RETORNA

MA + a 01/001

61.148.40.200:23000 128



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
REITORIA

Campus Universitário – Vicosa, MG – 36570-000 – Telefone: (31) 3899-2100 – Fax: (31) 3899-2108 – E-mail: reitoria@ufv.br

PROCURAÇÃO

OUTORGANTE: UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, pessoa jurídica de direito público, criada pelo Poder Público Federal, na forma de fundação pública de cunho educacional, com sede na Avenida P. H. Rolfs, s/nº, *Campus Universitário*, Viçosa, Minas Gerais, inscrita no CNPJ/MF sob o nº 25.944.455/0001-96, neste ato representada por sua Reitora, Prof.^a Nilda de Fátima Ferreira Soares, brasileira, casada, portadora da Carteira de Identidade de nº MG 1.516.297, expedida pela SSP/MG, inscrita no CPF sob o nº 423.581.916-04;

OUTORGADO: AFONSO SÉRGIO CORRÊA DE FARIA, brasileiro, casado, servidor público federal da carreira de Procurador Jurídico Federal, inscrito no CPF sob o nº 137.424.346-91 e OAB/MG nº 21.972, com domicílio legal na Procuradoria Jurídica junto à Universidade Federal de Viçosa, localizada à Avenida P. H. Rolfs, s/nº, *Campus Universitário*, Viçosa, Minas Gerais, CEP 36570-900;

PODERES: A **OUTORGANTE** confere ao **OUTORGADO** os poderes contidos na cláusula “AD NEGOTIA”, objetivando representar a Universidade Federal de Viçosa junto ao **INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL - INPI**, com poderes amplos e gerais, podendo o **OUTORGADO**: assinar formulários e termos de autorização para cópia, processo, patente, atividade comercial, marca, em cartórios, profissionais de identificação de direitos de propriedade industrial e, ainda, todos os atos que se fizer necessários para o bom e fiel cumprimento do presente mandato, podendo substabelecer, no todo ou em parte, a presente procuração, que terá a validade de 3 (três) anos.

Viçosa, 28 de setembro de 2015.

Nilda de Fátima Ferreira Soares
Nilda de Fátima Ferreira Soares
Reitora





MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

A MINISTRA DE ESTADO CHEFE DA CASA CIVIL

DA PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA, no uso de suas atribuições e tendo em vista o disposto no art. 1º do Decreto nº 4.734, de 11 de junho de 2003, resolve

PAULO AUGUSTO MALTA MOREIRA do cargo de Procurador-Chefe da Procuradoria Federal junto à Universidade Federal de Viçosa, código CD-3, a partir de 1º de julho de 2012.

Nº 705 - NOMEAR

AFONSO SÉRGIO CORRÊA DE FARIA, para exercer o cargo de Procurador-Chefe da Procuradoria Federal junto à Universidade Federal de Viçosa, código CD-3.

Nº 706 - NOMEAR

IRACI DE OLIVEIRA VAZ, para exercer o cargo de Procuradora-Chefe da Procuradoria Federal junto à Universidade Federal Rural de Amazônia, código CD-3.

GLEISI HOFFMANN

MINISTÉRIO DA JUSTIÇA

A MINISTRA DE ESTADO CHEFE DA CASA CIVIL

DA PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA, no uso de suas atribuições e tendo em vista o disposto no art. 1º do Decreto nº 4.734, de 11 de junho de 2003, resolve

Nº 707 - NOMEAR

ORLANDO MAGALHÃES DA CUNHA, para exercer o cargo de Diretor de Programa da Secretaria-Executiva do Ministério da Justiça, código DAS 101.5.

GLEISI HOFFMANN

MINISTÉRIO DAS CIDADES

A MINISTRA DE ESTADO CHEFE DA CASA CIVIL

DA PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA, no uso de suas atribuições e tendo em vista o disposto no art. 1º do Decreto nº 4.734, de 11 de junho de 2003, resolve

Nº 708 - EXONERAR

VIVIANA SIMON do cargo de Diretora do Departamento de Articulação Institucional da Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental do Ministério das Cidades, código DAS 101.5.

Nº 709 - NOMEAÇÃO

ERNANI CIRÍACO DE MIRANDA, para exercer o cargo de Diretor do Departamento de Articulação Institucional da Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental do Ministério das Cidades, código DAS 101.5.

Nº 710 - NOMEAR

YURI RAFAEL DELLA GIUSTINA, para exercer o cargo de Diretor do Departamento de Políticas de Acessibilidade e Planejamento Urbano da Secretaria Nacional de Acessibilidade e Programas Urbanos do Ministério das Cidades, código DAS 101.5.

GLEISI HOFFMANN

MINISTÉRIO DO PLANEJAMENTO,
ORÇAMENTO E GESTÃO

A MINISTRA DE ESTADO CHEFE DA CASA CIVIL

DA PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA, no uso de suas atribuições e tendo em vista o disposto no art. 1º do Decreto nº 4.734, de 11 de junho de 2003, resolve

Nº 711 - EXONERAR, a pedido,

ALIOMAR ARAPIRACA DA SILVA do cargo de Chefe do Escritório Especial em Altamira, Estado do Pará, da Secretaria do Programa de Aceleração do Crescimento do Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, código DAS 101.5, a partir de 15 de agosto de 2012.

Nº 712 - NOMEAR

CLEIDE ANTONIA DE SOUZA, para exercer o cargo de Chefe do Escritório Especial em Altamira, Estado do Pará, da Secretaria do Programa de Aceleração do Crescimento do Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, código DAS 101.5.

GLEISI HOFFMANN

SECRETARIA EXECUTIVA

PORTARIA Nº 207, DE 27 DE AGOSTO DE 2012

O SECRETÁRIO EXECUTIVO DA CASA CIVIL DA

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA, no uso da competência que lhe foi subdelegada pelo inciso I do art. 1º da Portaria nº 590, de 13 de junho de 2007, da Ministra de Estado Chefe da Casa Civil da Presidência da República, e tendo em vista o disposto no Decreto nº 4.734, de 11 de junho de 2003, resolve

NOMEAR

CARLOS HENRIQUE DE AZEVEDO MOREIRA para exercer o cargo de Assessor na Subchefia de Articulação e Monitoramento da Casa Civil da Presidência da República, código DAS 102.4.

BETO FERREIRA MARTINS VASCONCELOS

GABINETE DE SEGURANÇA INSTITUCIONAL
AGÊNCIA BRASILEIRA DE INTELIGÊNCIA
SECRETARIA DE PLANEJAMENTO ORÇAMENTO
E ADMINISTRAÇÃO

DEPARTAMENTO DE GESTÃO DE PESSOAL

RETIFICAÇÃO

Na Portaria nº 14/DGP/SPOA/ABIN/GSIPR, publicada no DOU nº 22, de 01/02/2010, referente à concessão de aposentadoria do ex-servidor, matrícula Abin nº 007036, incluir na fundamentação legal a menção ao "inciso III, do artigo 3º, da Emenda Constitucional nº 47/2005".

Publicada de acordo com o Art. 9º, da Lei 9.883/99.

SECRETARIA EXECUTIVA

PORTARIAS DE 27 DE AGOSTO DE 2012

O SECRETÁRIO EXECUTIVO DO GABINETE DE SEGURANÇA INSTITUCIONAL DA PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA,

no uso da subdelegação de competência que lhe foi conferida pelo art. 1º da Portaria nº 9 - GSI/PR/CH, de 13 de fevereiro de 2009, resolve

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA
CASA CIVIL
IMPrensa NACIONAL

DILMA VANA ROUSSEFF
Presidenta da República

GLEISI HELENA HOFFMANN
Ministra de Estado Chefe da Casa Civil

FERNANDO TOLENTINO DE SOUSA VIEIRA
Diretor-Geral da Imprensa Nacional

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO

SEÇÃO 1
Publicação de atos normativos

SEÇÃO 2
Publicação de atos
relativos a pessoal da
Administração Pública Federal

SEÇÃO 3
Publicação de contratos,
editais, avisos e ineditais

JORGE LUIZ ALENCAR GUERRA
Coordenador-Geral de Publicação e Divulgação

ALEXANDRE MIRANDA MACHADO
Coordenador de Editoração e
Divulgação Eletrônica dos Jornais Oficiais

FRANCISCO DAS CHAGAS PINTO
Coordenador de Produção

A Imprensa Nacional não possui representantes autorizados
para a comercialização de assinaturas impressas e eletrônicas

<http://www.in.gov.br> ouvidoria@in.gov.br
SIC, Quadra 6, Lote 809, CEP 70610-460, Brasília - DF
CNPJ: 04196645/0001-00
Fone: 0800 725 6787

