REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

Assinado Digitalmente

CARTA PATENTE N.º PI 0305664-3

Patente de Invenção

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

(21) Número do Depósito : PI 0305664-3

(22) Data do Depósito : 01/09/2003

(43) Data da Publicação do Pedido : 04/10/2005

(51) Classificação Internacional : C09B 61/00; G03C 1/10

(54) Título : MATERIAL À BASE DO CORANTE AZULENO PARA UTILIZAÇÃO EM TERAPIA FOTODINÂMICA

(73) Titular : Comissão Nacional de Energia Nuclear, CGC/CPF: 00402552000126. Endereço: Rua General Severiano, 90, Botafogo, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil (BR/RJ).

(72) Inventor : Martha Simões Ribeiro, Física. Endereço: Rua Cristovão Colombo Gonçalves, 214, São Paulo, Brasil, CEP: 04811050.; Aguinaldo Silva Garcez Segundo, Dentista. Endereço: Alameda Dos Guainumbis, 1405, São Paulo, Brasil, CEP: 04067003.

Prazo de Validade : 10 (dez) anos contados a partir de 26/11/2013, observadas as condições legais.

Expedida em : 26 de Novembro de 2013.

Assinado digitalmente por
Júlio César Castelo Branco Reis Moreira
Diretor de Patentes

"MATERIAL À BASE DO CORANTE AZULENO PARA UTILIZAÇÃO EM TERAPIA FOTODINÂMICA"

CAMPO TÉCNICO DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere à formulação de um material pastoso à base de corante azuleno, o qual se comporta como um fotossensibilizador que provoca morte microbiana quando associado a uma fonte de luz de baixa potência de emissão vermelha, com comprimento de onda ressonante à banda de absorção do corante (terapia fotodinâmica). A presente invenção ainda propõe uma formulação atóxica e que não mancha o tecido biológico (tecido mole, como a pele e mucosa, ou tecido duro, como dente e osso), para utilização em terapia fotodinâmica. A referida invenção pode ser utilizada nas diversas áreas da Saúde onde há necessidade da redução tópica de microrganismos. Na Odontologia, pode ser utilizada na desinfecção intracanal, doença periodontal, tratamento de candidíase e prevenção ou tratamento de cárie. Na Dermatologia, pode ser utilizada no tratamento de micoses. Na Ginecologia, no tratamento de vulvovaginite. Na Clínica Médica, no tratamento de feridas infectadas.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

É conhecido de Photochem. Photobiol. 2001, Vol. 74, páginas 656-669, que a terapia fotodinâmica tem sido utilizada nas áreas da Saúde para a destruição seletiva de tumores e redução microbiana. Consiste na associação de um agente fotossensibilizador, normalmente exógeno, e uma fonte de luz, com o objetivo de

provocar necrose celular (utilizada em tratamento de tumores) e morte microbiana. O mecanismo de ação se dá quando o agente fotossensibilizador absorve os fótons da fonte de luz e seus elétrons passam a um estado excitado. Na presença de um substrato, como, por exemplo, o oxigênio, o agente fotossensibilizador, ao retornar ao seu estado natural, transfere a energia ao substrato, formando espécies de vida curta e altamente reativas, como oxigênio singleto e radicais livres, que podem provocar sérios danos a microorganismos via oxidação irreversível de componentes celulares.

Nos microorganismos, a terapia fotodinâmica pode provocar dois tipos de reação tóxica: a reação do tipo I e do tipo II. A reação do tipo I é mediada pela formação, na presença de água, de radicais livres, principalmente hidroxila. Os radicais livres podem reagir com o oxigênio formando peróxidos e estes levam à peroxidação de lipídios, principalmente da membrana celular. Esta oxidação provoca injúrias à membrana, levando a extravasamento de fluidos e alterações na permeabilidade de íons. A reação do tipo II é mediada pela formação do oxigênio singleto e é considerada a mais fototóxica para microorganismos. O oxigênio singleto provoca a oxidação de componentes celulares, levando a danos na mitocôndria, parede celular e núcleo.

A eficiência da terapia fotodinâmica é, essencialmente, dependente de três fatores: biológicos (seletividade e retenção do corante/fotossensibilizador); físicos (intensidade da radiação eletromagnética que chega à região de tratamento, eficiência da absorção dos fótons ativadores, eficiência da transferência de

energia de excitação da molécula fotossensibilizadora) e químicos (alta eficiência na geração de produtos tóxicos ao alvo).

As primeiras fontes de luz eram lâmpadas convencionais emitindo luz branca, onde podiam ser acoplados filtros coloridos para seleção de determinados comprimentos de onda. Estas fontes de luz têm um forte componente térmico associado e devido às características da luz não coerente, o cálculo da dose se torna difícil. A principal vantagem é o custo relativamente baixo das lâmpadas e facilidade de uso.

As principais fontes de luz utilizadas atualmente são os lasers. As vantagens do uso do laser se devem às suas características como monocromaticidade (emissão de um único comprimento de onda) e, por isso, pode ser associado a fotossensibilizadores conhecidos, com banda de absorção ressonante. Assim, o cálculo da dose é fácil de ser determinado e a luz é facilmente transmitida por um sistema de fibras ópticas.

As fontes laser podem ser as mais variadas possíveis, de acordo com o corante utilizado, entretanto, atualmente são utilizados lasers de diodo de emissão vermelha, pois os lasers de diodo podem ter maior potência, são mais compactos, mais robustos, com sistemas ópticos mais simples, sem a necessidade de espelhos, e de custo menor. Além disso, a penetração óptica ótima da luz no tecido biológico ocorre para comprimentos de onda entre 650 nm - 800 nm.

Com relação aos fotossensibilizadores, é conhecido de J. Antimicrob. Chemother. 1998, Vol. 42, páginas 13-28, que são geralmente moléculas

aromáticas com estrutura similar à clorofila e à hemoglobina, isto é, são moléculas com um anel heterocíclico. A energia que será absorvida pelo corante depende da sua estrutura molecular.

Em Medicina, para o tratamento de câncer, os fotossensibilizadores mais comuns utilizados na terapia fotodinâmica são as porfirinas, tais como os derivados de hematoporfirina (HpD), e o ácido aminolevulínico (5-ALA). Quando a terapia fotodinâmica é antimicrobiana, corantes como as fenotiazinas, cianinas e ftalocianinas são comumente utilizados.

Desde que as fontes de luz convencionais mudaram para o laser, tornou-se fundamental a pesquisa por novos fotossensibilizadores, menos tóxicos, com mínimos efeitos colaterais, maior seletividade, com absorção no intervalo de λ= 600 nm – 1000 nm, que correspondem aos comprimentos de onda emitidos pelos equipamentos lasers comerciais, com o objetivo de aumentar a eficiência da terapia fotodinâmica e tornar esta terapia mais acessível à prática clínica. É conhecido de J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 2000, Vol. 55, páginas 27-36, que um agente fotossensibilizador ideal deve ser biologicamente estável, fotoquimicamente eficiente na geração de produtos tóxicos ao microrganismo, seletivo aos tecidos alvos e minimamente tóxico aos tecidos normais.

Os corantes mais comumente utilizados na terapia fotodinâmica antimicrobiana são o azul de metileno e azul de toluidina. É conhecido de Lasers Surg. Med., 1996, Vol. 18, páginas 253-259, e Proc. SPIE, 2001, Vol. 4433, páginas 160-168, que o azul de metileno ou o azul de toluidina, devido à sua

toxicidade, não podem ser utilizados em concentrações superiores a 1%. Além disso, dependendo de sua concentração, podem provocar manchamento do tecido biológico.

O azuleno é extraído da camomila (*Chamomilla recutita*). Quimicamente corresponde ao ciclopentaciclohepteno. Quando fresco, o óleo da camomila é uma tinta azul, por causa da presença de um sesquiterpeno derivado do azuleno, o camazuleno. Entretanto, é comum empregar-se o termo azuleno para identificar também o camazuleno, cuja fórmula química é 1,4 dimetil 7-etil - azuleno. Tanto o azuleno, como seus derivados, têm efeito antialérgico e antiinflamatório, sendo utilizados em formulações químicas e farmacêuticas, desde xampus e loções cosméticas a agentes anticancerígenos e diversos compostos antiinflamatórios. É conhecido da patente americana 6.491.899 que o azuleno é um agente antiinflamatório e pode ser utilizado como um típico aditivo ou auxiliar na composição de dentifrícios para higiene dental. Da patente americana 6.437.002, é conhecido que o azuleno pode ser utilizado como ingrediente farmacêutico comum na fabricação de um agente para prevenção e tratamento de doenças da pele, cujo ingrediente ativo é um derivado do ácido ascórbico. É conhecido de Planta Med., 1994, Vol. 60, páginas 410-413, que o camazuleno inibe o processo inflamatório de lesões de pele.

Diferentemente do estado da técnica, a presente invenção objetiva utilizar o azuleno em terapia fotodinâmica, ou seja, a utilização do azuleno, que possui propriedades fotossensibilizadoras, quando associado a uma fonte de luz de baixa

potência, monocromática de emissão vermelha ou policromática com emissão na região vermelha do espectro eletromagnético, provoca morte microbiana. A invenção aqui pretendida não objetiva a utilização do azuleno meramente como um aditivo ou ingrediente com características antialérgicas ou antiinflamatório na composição de formulações. Adicionalmente, a referida invenção demonstra que a formulação pastosa à base do azuleno não é tóxica e não mancha o tecido biológico, diferentemente do que é evidenciado no estado da técnica com o azul de metileno e o azul de toluidina.

Conclui-se, portanto, que a presente invenção possui como características singulares e vantagens em relação ao estado da técnica: a morte microbiana quando da combinação do azuleno com uma fonte de luz de baixa potência de emissão vermelha; a formulação de um material pastoso, atóxico e que não mancha o tecido biológico mesmo em alta concentração de azuleno.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se à formulação de um material pastoso à base de azuleno, cuja propriedade fotossensibilizadora provoca morte microbiana quando associado a uma fonte de luz de baixa potência, monocromática de emissão vermelha ou policromática com emissão na região vermelha do espectro eletromagnético, com comprimento de onda ressonante à banda de absorção do corante (terapia fotodinâmica). A referida formulação da pasta à base do fotossensibilizador azuleno mostrou não ser tóxica na terapia fotodinâmica, mesmo se utilizado o azuleno em concentrações mais altas que 1%. Similarmente,

a referida formulação não provoca manchamento do tecido biológico, podendo ser facilmente removida mesmo quando a concentração é de 25%.

Utilizando uma concentração alta de azuleno para potencializar o efeito da terapia, há manchamento do tecido, sendo difícil sua remoção após cinco minutos. Portanto, para que a formulação proposta se apresente atóxica para utilização na área de Saúde, o azuleno é combinado a uma pasta composta de um agente oxidante (5% a 25%), um detergente (5% a 25%) e um veículo (50% a 90%). Os agentes oxidantes compreendem compostos de uréia, como o peróxido de uréia, não limitado a este. O detergente é formado pela mistura de um ácido graxo ou oléico com um poliálcool (sorbitol), resultando em um éster de oleato de sorbitol. Este éster é veiculado em álcool, como o polietilenoglicol, não limitado a este.

A referida formulação da pasta à base de azuleno pode ser facilmente removida por irrigação com solução salina ou água, evidenciando-se, portanto, que não ocorre o manchamento do tecido biológico.

De maneira a investigar o comprimento de onda capaz de provocar a morte microbiana, foi realizado experimento com um laser de emissão vermelha. A figura 1 mostra o espectro de absorção do azuleno puro (1), da associação do azuleno com a pasta (2) e da pasta sem azuleno (3). Como pode ser observado na referida figura 1, o laser é fortemente absorvido pelo azuleno e pelo material à base de azuleno, ou seja, (1) e (2) possuem banda de absorção entre λ= 500nm – 750nm, notando-se a alta absorção na região vermelha do espectro eletromagnético entre 600nm e 700nm, preferencialmente em λ= 685nm. (3) já não possui absorção

nesta banda do espectro eletromagnético. Dessa maneira, o azuleno em associação com a pasta não perde sua absorção na região vermelha do espectro eletromagnético, ocorrendo, portanto, a morte microbiana sempre que houver a presença do azuleno com ativação de luz.

REIVINDICAÇÕES

1- Material à base do corante azuleno para utilização em terapia fotodinâmica, caracterizado por ser material pastoso, atóxico, de uso tópico, possuir propriedade fotossensibilizadora que provoca morte microbiana quando ativado por fonte de luz de emissão vermelha, e por compreender a seguinte formulação: corante azuleno em concentração superior a 1%, agente oxidante na proporção de 5% a 25%, detergente na proporção de 5% a 25%, e veículo na proporção de 50% a 90%, podendo ser removido por irrigação com solução salina ou água sem causar manchamento do tecido biológico.

2- Material à base do corante azuleno para utilização em terapia fotodinâmica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo agente oxidante compreender compostos da uréia, preferencialmente peróxido de uréia.

3- Material à base do corante azuleno para utilização em terapia fotodinâmica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo detergente consistir da mistura de um ácido graxo ou oléico com um poliálcool (sorbitol), resultando em um éster de oleato de sorbitol.

4- Material à base do corante azuleno para utilização em terapia fotodinâmica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo veículo compreender álcoois, preferencialmente polietilenoglicol.

5- Material à base do corante azuleno para utilização em terapia fotodinâmica, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por possuir alta absorção na região vermelha do espectro eletromagnético, entre 600nm e 700nm, quando submetido a uma fonte de luz monocromática de emissão vermelha ou policromática com emissão na região vermelha do espectro eletromagnético.

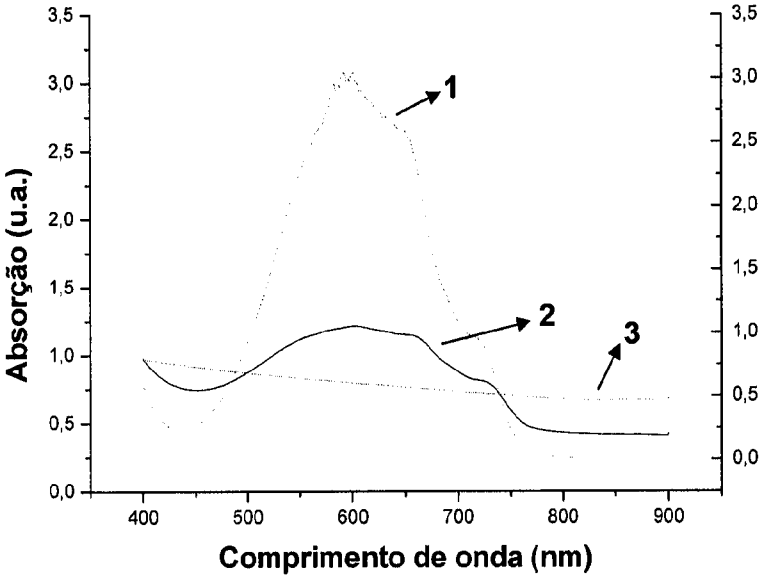
Absorção (u.a.)
Comprimento de onda (nm)
1
2
3
0,0
0,5
1,0
1,5
2,0
2,5
3,0
3,5
400
500
600
700
800
900

Figura 1

RESUMO

"MATERIAL À BASE DO CORANTE AZULENO PARA UTILIZAÇÃO EM TERAPIA FOTODINÂMICA"

A invenção se refere a um material pastoso, atóxico, de uso tópico, para utilização em terapia fotodinâmica, cuja formulação compreende o corante azuleno em concentração superior a 1%, agente oxidante (5% a 25%), detergente (5% a 25%) e álcool como veículo (50% a 90%). O referido material possui propriedade fotossensibilizadora que provoca morte microbiana quando ativado por fonte de luz de emissão vermelha, com comprimento de onda ressonante à banda de absorção do corante azuleno puro. Adicionalmente, o material não causa manchamento do tecido biológico, podendo ser removido por irrigação com solução salina ou água.