



**Assinado  
Digitalmente**

**REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL**  
MINISTÉRIO DA ECONOMIA  
**INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL**

## CARTA PATENTE Nº PI 1001084-0

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, 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 1001084-0

**(22) Data do Depósito:** 15/04/2010

**(43) Data da Publicação do Pedido:** 06/12/2011

**(51) Classificação Internacional:** A61K 36/15.

**(52) Classificação CPC:** A61K 36/15.

**(54) Título:** PROCESSO DE PRODUÇÃO DE EXTRATO DE ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA

**(73) Titular:** FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL - UCS. CGC/CPF: 88648761000103. Endereço: Rua Francisco Getulio Vargas 1130, Cidade Universitária Exposição, Caxias do Sul, RS, BRASIL(BR)

**(72) Inventor:** MIRIAN SALVADOR; PATRÍCIA KELLY WILMSEN DALLA SANTA SPADA; FABIANE MICHELON.

**Prazo de Validade:** 20 (vinte) anos contados a partir de 15/04/2010, observadas as condições legais

**Expedida em:** 24/09/2019

Assinado digitalmente por:

**Liane Elizabeth Caldeira Lage**

Diretora de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

## **Relatório Descritivo de Patente de Invenção**

### PROCESSO DE PRODUÇÃO DE EXTRATO DE *ARAUCARIA* *ANGUSTIFOLIA*

#### **Campo da Invenção**

[0001] A presente invenção descreve um processo de produção de extrato de brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *Araucaria Angustifolia*, o extrato obtido pelo mesmo, e uma composição compreendendo o referido extrato. A presente invenção se situa no campo da Farmacologia.

#### **Antecedentes da Invenção**

##### *Araucaria angustifolia*

[0002] A *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (*Araucariaceae*) é uma conífera nativa do Sul do Brasil, particularmente dos altos dos estados de Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Popularmente conhecida como 'pinheiro-do-paraná' ou 'pinheiro-brasileiro', é reconhecida como umas das espécies de grande relevância econômica e ecológica.

[0003] As flores femininas da *A. Angustifolia* apresentam-se em estróbilo (pinha) protegido por várias folhas bem aglomeradas, no auge de um galho do pinheiro. Composta por brácteas escamiformes, com consistência semelhante ao couro, sem asas e com um espinho torcido no ápice, fixadas em um eixo central cônico, com a base mais ou menos cilíndrica. As brácteas férteis envolvem somente um óvulo fecundado (pinhão/amêndoa) e as brácteas inférteis formam as falhas.

[0004] A amêndoa, parte comestível do pinhão, é revestida externamente por camadas de fibras longitudinais, de cor verniz brilhante e que recobre uma segunda camada, unida com fibras circulares e longitudinais com cor marrom-claro opaca, funcionando como uma espécie de cobertura do óvulo, a qual se separa da amêndoa através de uma membrana muito fina com cor mais brilhante e intensa. Todo esse conjunto de revestimentos é denominado de casca (Retiz et al., 1983). Sabe-se que durante o cozimento os polifenóis

presentes na casca do pinhão migram para a amêndoa (Cordenunsi, 2004).

**[0005]** As brácteas estéreis, popularmente conhecidas como falhas, não podem ser nomeadas de escamas, pois apresentam as mesmas características morfológicas da região abaxial de uma semente, não podendo ser diferenciada externamente na pinha. Acredita-se que as falhas sejam óvulos não polinizados e que não puderam prosperar por falta de espaço. As pinhas apresentam em torno de 89,3% de falhas (Muller e Macedo, 1980), as quais são descartadas no ambiente, por não terem outra finalidade.

**[0006]** Os pinhões e as falhas se fixam na região axial ao eixo da pinha, que possui a função de placenta, fornecendo ao conjunto ofertas alimentares e substratos energéticos para a formação e desenvolvimento. Os pinhões desprendem-se do eixo central assim que estiverem amadurecidos. Na maioria dos casos, o eixo central possui aparência cordiforme, com a maior protuberância direcionada para o centro geométrico (Vernalha et al., 1972). O eixo central representa em média 2,25% do peso total da pinha e até o momento não há utilidade descrita para o mesmo, sendo descartado na natureza.

**[0007]** O nó de *A. angustifolia* é o segmento do galho embutido no tronco da árvore, possui forma cônica e suas dimensões variam em função da idade da planta. Quando os galhos se desprendem da árvore, os nós permanecem no tronco. Devido ao fato de serem impregnados da resina natural do pinheiro, não se decompõem facilmente (Keizo et al., 1995).

**[0008]** Diferentes partes das árvores de *A. angustifolia* são utilizadas na medicina popular brasileira. A tintura ou infusão dos nós de pinho são tradicionalmente usadas via oral e/ou tópica para o tratamento de reumatismo, doenças sexualmente transmitidas e renais. Para o tratamento de infecções respiratórias tem sido utilizado xarope obtido da resina dos nós de pinho. Infusões das cascas do tronco (cascas mortas) também são usadas topicamente para diminuir tensões musculares e varizes. A infusão das folhas é usada no tratamento de escrófula, fadiga e anemia, já a tintura é utilizada para hidratação da pele, cicatrização de feridas e tratamento de herpes (Freitas et

al., 2009).

### Propriedades antioxidantes

**[0009]** Os antioxidantes são compostos que funcionam como bloqueadores dos processos óxido-redutivos desencadeados pelos radicais livres. Frequentemente, o termo “antioxidante” é implicitamente restrito aos compostos inibidores da lipoperoxidação, entretanto, pode ser definido mais amplamente como “uma substância que, quando presente em baixas concentrações, comparada a outras que oxidam um substrato, previnem significativamente, a oxidação deste substrato” (Halliwell & Gutteridge, 2007).

**[0010]** Entre os antioxidantes não-enzimáticos mais efetivos estão os polifenóis, que atuam quebrando a cadeia das reações oxidativas, eliminando radicais livres ou quelando íons metálicos (Sanchez-Moreno *et al.*, 1999). Os polifenóis são compostos com um ou mais anéis aromáticos que contêm grupos hidroxilas, sendo, portanto capazes de quelar metais e varrer radicais livres pela formação de radicais fenoxil (Mello & Santos, 1999). Além disso, apresentam atividade anticarcinogênica, antiaterogênica, cardiopreventiva, antimicrobiana, antiviral, neuroprotetora e antiinflamatória (Gabetta *et al.*, 2000; Fan & Lou, 2004; Guendez *et al.*, 2005; Aron & Kennedy, 2008; Terra *et al.*, 2008). Os flavonóides são polifenóis presentes em frutas, verduras e legumes, que apresentam propriedade antioxidante e são responsáveis pelo sabor, odor e cor dos frutos (Ross & Kasum, 2002). De um modo geral, os flavonóides têm o poder de inibir a atuação do radical livre superóxido, do oxigênio *singlet* e da enzima lipoxigenase, a qual faz parte da biossíntese de leucotrienos e prostaglandinas, substâncias implicadas em várias patologias do homem. Mais recentemente, a atividade varredora dos flavonóides tem sido observada contra radicais livres do nitrogênio e ácido hipocloroso (Puppo, 1992; De Groot & Rauen, 1998; Sichel *et al.*, 1991; Cotelle *et al.*, 1996; Bors *et al.*, 1994; Van Acker *et al.*, 1996). O radical hidroxila gerado pela fotólise do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> com radiação UV254nm e UV330nm também pode ser neutralizado pelos flavonóides. Várias classes de flavonóides mostraram capacidade de diminuir a formação de malondialdeído (MDA), um produto decorrente da peroxidação

lipídica, em estudos *in vitro* (Puppo, 1992).

**[0011]** Os flavonóides encontrados na *A. Angustifolia*, conforme descrito na literatura são a quercitina e a catequina, presentes na casca interna e externa que reveste a amêndoa (Cordenunsi et al., 2004). A planta também apresenta biflavonóides da classe das amentoflavonas e ginkgentina (Yamagushi et al., 2008), proantocianidinas, bilobetina e II-7-O-metil-robustoflavona (Freitas et al., 2009).

**[0012]** A busca na literatura patentária apontou alguns documentos relevantes citando Araucárias que serão descritos a seguir.

**[0013]** O documento PI 0701139-3 revela um extrato de acícula de pinheiro de *Araucaria Angustifolia*, processo de obtenção deste e aplicação compreendendo o mesmo. A presente invenção difere deste documento por não se utilizar de acículas de *A. Angustifolia*, mas, sim, brácteas estéreis, eixo central e/ou nós e pelo extrato obtido ser rico em polifenóis, fatos não citados no referido documento.

**[0014]** O documento PI 0604626 revela um processo de extração de fenólicos de casca morta de Araucária. A presente invenção difere deste documento por não se utilizar das cascas da planta em si, mas das brácteas estéreis, eixo central e/ou nós, produzidos pela referida planta.

**[0015]** O documento US 2007/0166407 revela extratos de células de uma variedade de plantas, incluindo *A. Angustifolia*, através de uma solução se utilizando de um agente alcalino. A presente invenção difere deste documento por não necessitar de um agente alcalino ao longo de seu processo.

**[0016]** O documento WO 2006/117464 revela um extrato hidroglicólico protetor da pele compreendendo extrato de grãos de Araucária. A presente invenção difere deste documento devido ao extrato não ser hidroglicólico e por não se utilizar de grãos de *A. Angustifolia*, mas sim brácteas estéreis, eixo central e/ou nós.

**[0017]** O documento PI 0803819-8 revela um extrato glicerinado da casca do pinhão de *A. Angustifolia*. A presente invenção difere deste documento devido ao extrato não ser glicerinado e porque se utiliza de brácteas estéreis, eixo

central e/ou nós de *A. Angustifolia*.

**[0018]** O documento PI 0305913-8 revela processos de obtenção de biflavonóides de folhas de *A. Angustifolia*. A presente invenção difere deste documento por não se utilizar das folhas, mas sim se utilizar das brácteas estéreis, eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia*.

**[0019]** O documento EP 0 395 757 revela um método de extração de uma substância fisiologicamente ativa de brácteas estéreis de *Pinus*, na qual um polissacarídeo é a substância principal, utilizando uma solução alcalina em sua extração. A presente invenção difere deste documento por não se utilizar da planta *Pinus*, mas sim de *Araucaria Angustifolia* para a obtenção do extrato.

**[0020]** Do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica.

### **Sumário da Invenção**

**[0021]** Em um aspecto, a presente invenção proporciona um processo de produção de extrato de *Araucaria Angustifolia*, o extrato obtido pelo mesmo e uma composição com propriedades antioxidantes compreendendo o referido extrato.

**[0022]** É, portanto, um objeto da presente invenção o processo de produção de extrato rico em polifenóis a partir de *Araucaria Angustifolia* compreendendo as etapas de:

- a) secagem e trituração das brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia*;
- b) submeter as brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós triturados a uma extração com água e/ou solventes orgânicos ácidos ou neutros; e
- c) purificação.

**[0023]** Em uma realização preferencial, a secagem das brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia* coletadas se dá em estufa de secagem com ar circulante.

**[0024]** Em uma realização preferencial, a trituração das brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia* se dá em moinho de facas e/ou por agitação mecânica (turbo – extração).

**[0025]** Em uma realização preferencial, os solventes orgânicos utilizados na extração podem ser metanol, etanol, n-butanol, acetato de etila, acetona.

**[0026]** Em uma realização preferencial, a extração com água e/ou solventes orgânicos se dá através de decocção, maceração, infusão e/ou cocção. A etapa de purificação preferencial é a filtração.

**[0027]** É um objeto adicional da presente invenção um extrato de brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *Araucaria Angustifolia* obtido pelo processo compreendendo entre 0,5% e 10% de concentração de polifenóis.

É, portanto, um objeto adicional da presente invenção uma composição compreendendo:

- a) um veículo farmacologicamente aceitável; e
- b) entre 0,01 e 100mg de polifenóis provenientes do extrato obtido a partir de brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *Araucaria Angustifolia*.

**[0028]** Em uma realização preferencial, a composição pode ser farmacêutica, cosmeceutica ou nutracêutica e possui propriedades antioxidantes.

**[0029]** Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesses no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

### **Descrição Detalhada da Invenção**

**[0030]** Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo, sem limitar o escopo da mesma.

#### **Processo de Produção de Extrato rico em polifenóis a partir de *Araucaria Angustifolia***

**[0031]** O processo de produção de extrato rico em polifenóis a partir de *Araucaria Angustifolia* compreendendo as etapas de:

a) coleta, secagem e trituração das brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia*;

b) submeter as brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós triturados a uma extração com água e/ou solventes orgânicos ácidos ou neutros; e

c) purificação.

#### Secagem

**[0032]** A secagem das brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia* coletadas na presente invenção se refere a um método de redução de umidade para preparação para trituração. Em uma realização preferencial, a secagem das brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia* coletadas se dá em estufa de secagem com ar circulante.

#### Trituração

**[0033]** A trituração brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia* coletadas na presente invenção se refere à quebra das brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia* em pedaços menores para possibilitar a obtenção do extrato. Em uma realização preferencial, a trituração das brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia* se dá em moinho de facas e/ou por agitação mecânica (turbo – extração).

#### Extração

**[0034]** A extração do produto refere-se a uma forma de obtenção do extrato de brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia* contendo polifenóis, não se restringindo à utilização de agentes alcalinos, como já era comum anteriormente. Em uma realização preferencial, os solventes orgânicos utilizados na extração podem ser metanol, etanol, n-butanol, acetato de etila, acetona.

**[0035]** Em uma realização preferencial, a extração com água e/ou solventes orgânicos se dá através de decocção, maceração, infusão e/ou cocção.

#### Purificação

**[0036]** A etapa de purificação adequada na presente invenção é qualquer etapa que proporcione a retirada de impurezas do extrato obtido. Etapas adequadas incluem, sem limitação, filtração, cromatografia, dentre outros

processos conhecidos do estado da técnica.

#### Veículo Aceitável

**[0037]** O veículo aceitável da presente invenção pode ser escolhido do grupo que compreende excipientes e carreadores aceitáveis para uso em diversos tipos de composições como, por exemplo, mas sem se limitar a, composições farmacêuticas, cosmecêuticas ou nutracêuticas, sendo utilizadas as doses e/ou tratamentos convenientes para uso em uma série de regimentos de aplicação.

#### **Exemplo 1. Realização Preferencial**

**[0038]** O objetivo da invenção ora proposta é a obtenção de extratos de *A. angustifolia* ricos em polifenóis. Esta invenção possibilita a utilização de partes da *A. angustifolia* sem ocasionar desequilíbrio no ambiente.

**[0039]** Para determinação da atividade antioxidante, foi utilizado o ensaio *in vitro* com DPPH\* (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (Rice-Evans et al., 1995). O DPPH\* é um radical livre estável que pode ser reduzido por um antioxidante resultando em perda de coloração determinada a 517nm (Yamaguchi et al., 1998; Espín et al., 2000; Fukumoto & Mazza, 2000).

**[0040]** O conteúdo de polifenóis totais e determinação da atividade antioxidante de diferentes partes de *A. angustifolia*, bem como dos antioxidantes ácido ascórbico e vitamina E, estão apresentados na Tabela 1:

**Tabela 1:** Quantificação de polifenóis totais e determinação de atividade antioxidante de diferentes partes de *Araucaria angustifolia*.

Parte estudada	Polifenóis totais (mg %)	DPPH (% de inibição)
Brácteas estéreis (Falhas)	111,16	85,88
Eixo central	38,51	76,01
Nó	104,15	77,20
Ácido Ascórbico	-	89,84
Vitamina E	-	85,22

Valores médios. Extrato de *Araucaria angustifolia* preparado a 5% (p/v) em água. Ácido ascórbico (Vitamina C) preparado a 0,5% (p/v) em água. Vitamina E preparada a 0,5% em etanol.

### **Reivindicações**

1. Processo de produção de extrato rico em polifenóis a partir de *Araucaria Angustifolia* **caracterizado** por compreender as etapas de:

a) secagem e trituração das brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia*;

b) submeter as brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós triturados a uma extração com água e/ou solventes orgânico ácidos ou neutros; e

c) purificação.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pela secagem das brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia* coletadas se dar em estufa de secagem com ar circulante.

3. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 2, **caracterizado** pela trituração das brácteas estéreis (falhas), eixo central e/ou nós de *A. Angustifolia* se dar em moinho de facas e/ou por agitação mecânica (turbo – extração).

4. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo solvente orgânico utilizado na extração estar incluído no grupo que compreende: metanol, etanol, n-butanol, acetato de etila, e acetona.

5. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizado** pela extração com água e/ou solventes orgânicos ocorrer através de decocção, maceração, infusão e/ou cocção.

6. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizado** pela purificação se dar através de filtração.