



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102019010581-0 A2



(22) Data do Depósito: 23/05/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 01/12/2020

---

(54) **Título:** USO DOS EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO DE MIMOSA GRACILIS E SUAS VARIEDADES, NATIVAS OU MICROPROPAGADAS, COMO AGENTE ANTIOFÍDICO

(51) **Int. Cl.:** A61K 36/48; A61K 127/00; A61K 135/00; A61K 125/00; A61P 39/02.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS; UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE.

(72) **Inventor(es):** VANESSA GISELE PASQUALOTTO SEVERINO; LUCÍLIA KATO; SÉRGIO TADEU SIBOV; GERSO PEREIRA ALEXANDRE; GABRIEL MAMÉDIO DE FREITAS; NUBIA ALVES MARIANO TEIXEIRA PIRES GOMIDES; EURIDES FRANCISCO TEIXEIRA JUNIOR; ANA MARIA TORRES; GABRIELA ANA LETICIA RICCIARDI; JAKELINE TOMÉ DA SILVA.

(57) **Resumo:** A presente patente de invenção refere-se ao uso dos extratos etanólico (EE) e aquoso (EA) e das frações em solventes orgânicos (FO) padronizados de folhas, caules e/ou raízes de *Mimosa gracilis* subespécies e suas variedades, nativas ou micropropagadas, como agente antiofídico. A atividade antiofídica dos extratos foi testada in vitro contra os efeitos do veneno de *Bothrops alternatus* e houve neutralização da atividade do veneno tornando-os candidatos a fármacos ou fitofármacos para auxiliar no tratamento de envenenamento por ofídio.

## USO DOS EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO DE *Mimosa gracilis* E SUAS VARI- DADES, NATIVAS OU MICROPROPAGADAS, COMO AGENTE ANTIOFÍDICO

### CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente patente de invenção refere-se ao uso dos extratos etanólico (EE) e aquoso (EA) e das frações em solventes orgânicos (FO) de baixa, média, alta polaridade ou líquidos iônicos, padronizados de folhas, caules e/ou raízes de *Mimosa gracilis* subespécies e suas variedades, nativas ou micropropagadas, como agente antiofídico.

### FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO E ESTADO DA TÉCNICA

[002] A abordagem etnobotânica constitui um aparato útil na elaboração de estudos de base para a biotecnologia (farmacologia, fitoquímica, genética e biologia molecular), pois de acordo com Yunes & Calixto (2001), a possibilidade de encontrar atividade biológica em plantas orientadas pelo uso popular é maior que para aquelas escolhidas ao acaso.

[003] Neste contexto, a espécie vegetal *Mimosa gracilis* foi relatada em estudo etnobotânico realizado com membros da comunidade Coqueiros em Catalão-GO como uma espécie medicinal que atua contra o veneno de cobra.

[004] O gênero *Mimosa* L. compreende aproximadamente 480 espécies distribuídas principalmente na América do Sul. No Brasil estima-se a ocorrência de cerca de 70% das espécies do gênero (NUNES, *et al* 2008; NASCIMENTO, *et al* 2012). Algumas dessas espécies são utilizadas na medicina popular como cicatrizante para queimaduras (JOSE, *et al* 2016; NASCIMENTO, *et al* 2012), como antiveneno contra picadas de cobra e de escorpião (SERAGLIO, *et al* 2017; SANTOS-SILVA, *et al* 2015; NASCIMENTO, *et al* 2012), no tratamento de cefaleia, insônia, diarreia e como antipirético (AZEVEDO, *et al* 2017; NASCIMENTO, *et al* 2012).

[005] Apesar de não haver menções de estudos químico-biológicos na literatura para esta espécie, Mahanta & Mukherjee (2001) relataram a ação antiofídica contra o veneno da cobra-do-mar-comum do extrato de outra espécie de *Mimosa*, a *M. pudica*. O extrato aquoso da raiz desta Mimosaceae neutralizou *in vitro* as enzimas tóxicas do veneno de *Naja naja* e *Bangarus*

*caerulus*, apresentando efeito inibitório; este extrato também foi testado contra o veneno de *Naja kaouthia*, apresentando inibição total (MAHANTA, *et al* 2001; VEJAYAN, *et al* 2007 e SIA, *et al* 2011). Ainda sobre a *M. pudica*, Kokane e colaboradores (2009) identificaram compostos fenólicos em seu extrato aquoso.

[006] Existem nas bases de dados INPI e LATIPAT apenas quatro publicações sobre agentes antiofídicos BR 1020160202558, PI 0701664-6, e BR 1020170145441 BR 1020130340464. As duas primeiras são moléculas sintéticas, a terceira é de origem da *Rhizophora mangle* e a quarta é de origem do gênero *Jatropha*. Nas bases de dados SPACENET e PATENTSCOPE foram encontrados CN 20161346809 20160524, CN20152226824U 20150415, CN 20111416798 20111214, US 19760744891 19761129 e IN 2697MA199819981130, mas nenhum desses registros é relacionado ao uso da *Mimosa gracilis*.

[007] Atualmente, o tratamento contra envenenamento por ofídio é realizado pela utilização do soro antiofídico, mas, apesar de eficaz, exige uma série de cuidados no transporte e armazenagem e, em muitos casos, essas exigências não podem ser atendidas, principalmente, em regiões isoladas e distante dos grandes centros.

[008] Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil, foram registrados, entre 2000 e 2017, mais de 470 mil casos de acidentes ofídicos. A maioria dos acidentes são botrópicos, ou seja, causados por serpentes do gênero *Bothrops* e *Bothrocophias* que compreendem as serpentes: jararacuçu, jararaca, urutu, caiçara e combóia (<http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/acidentes-por-animais-peconhentos>, 2019).

## DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[009] A presente invenção se refere ao uso do EE, EA e FO oriundas de folhas, caules e/ou raízes de *Mimosa gracilis* subespécies e suas variedades, nativas ou micropropagadas, como agente antiofídico.

[010] A atividade antiofídica dos extratos foi testada *in vitro* contra os efeitos do veneno de *Bothrops alternatus* e houve neutralização das proteínas do veneno, atividades anti-hemolítica, antiproteolítica e anticoagulante.

[011] A atividade antiofídica dos EE e EA foi avaliada utilizando-se dodecil sulfato de sódio em gel eletroforético de poliacrilamida (SDS-PAGE) com géis de separação e de stacking conforme Camargo, *et al* 2011. Foram considerados ativos os extratos que modificaram o padrão eletroforético do veneno após a incubação durante 30 minutos a 37 °C, mediante a diminuição ou desaparecimento de bandas do veneno ou o surgimento de novas bandas com peso molecular distinto.

[012] Para a preparação do EE as partes vegetais (raiz e partes aéreas) foram maceradas com etanol, realizando-se a troca de solvente a cada três dias, totalizando três extrações ao longo de nove dias. O EE foi seco em evaporador rotativo, a baixa pressão.

[013] Para a preparação do EA as partes vegetais (raiz e partes aéreas) foram maceradas com água destilada, realizando-se a substituição do solvente a cada três dias, totalizando três extrações ao longo de nove dias. O EA foi seco por liofilização.

[014] Os materiais propagativos foram multiplicados *in vitro* e posterior plantio visando à obtenção de plantas adultas. Em cada região, foram anotados e avaliados os seguintes dados relativos à região e às espécies em estudo: a) altura e diâmetro das plantas, estado de desenvolvimento das plantas e período fenológico; b) local de ocorrência (solo, rochas, sombra, etc.); c) análise física e química dos solos ou substratos, coletados a profundidade de 20 cm, onde estes ocorrem; d) altitude e coordenadas geográficas, obtidas no local de coleta; e) dados climáticos de estações climatológicas existentes nas proximidades (temperaturas médias, máximas e mínimas, precipitação média); f) não sendo possível a coleta da planta em período fértil (florescimento e/ou frutificação), aqueles indivíduos de maior porte foram conduzidos para os Campos Experimentais mantidos *in vivo* e *ex situ*, para que possam florescer e possibilitar a identificação.

[015] Para a micropropagação, foram utilizados como explantes iniciais segmentos nodais provenientes de plantas matrizes selecionadas em ambiente natural. Foi realizada a descontaminação inicialmente com detergente comercial em água corrente, seguido de solução de álcool etílico (70%) e hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo). O preparo final dos explantes para a inoculação foi efetuado em câmara de fluxo laminar, em ambiente asséptico. A inoculação foi feita em frascos de vidro (300 mL), contendo meio básico MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) suplementado com 2,0mg/L de BAP (6-benzilaminopurina) e 1,0mg/L de

ANA (ácido 3-indolacético). Após a inoculação, os frascos contendo os explantes foram mantidos em câmara de crescimento a 25°C e fotoperíodo de 16 horas de luz. Foram feitas três repicagens para os meios de multiplicação com intervalos de 28 dias.

[016] Após a fase de multiplicação, os explantes foram transferidos para meio de cultura de enraizamento: MS1/2 (meio MS com metade da concentração de macronutrientes) e suplementado com 1,0 mg/L de AIB (ácido indol-3butírico). Após a inoculação, os frascos foram mantidos em câmara de crescimento por 60 dias.

[017] A fase final de aclimatização teve início com a retirada das plantas do meio de cultura para enraizamento, lavagem em água corrente e plantio em bandejas com substrato comercial umedecido com solução nutritiva. As bandejas foram mantidas em telado com 50% de sombreamento, onde permaneceram por um período de 30 dias. Após esta primeira fase de aclimatização, as plantas com maior tamanho e já adaptadas foram transferidas para sacos plásticos de 2 L, com o mesmo tipo de substrato, para facilitar o desenvolvimento.

## REIVINDICAÇÕES

1. USO DOS EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO DE *Mimosa gracilis* E SUAS VARIEDADES, NATIVAS OU MICROPROPAGADAS, COMO AGENTE ANTIOFÍDICO, **caracterizado** por apresentarem substâncias com potencial utilização como antiofídico.
2. USO DOS EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO DE *Mimosa gracilis* E SUAS VARIEDADES, NATIVAS OU MICROPROPAGADAS, COMO AGENTE ANTIOFÍDICO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por sua incorporação em formas farmacêuticas ou fitoterápicas como antiofídico para humanos.
3. USO DOS EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO DE *Mimosa gracilis* E SUAS VARIEDADES, NATIVAS OU MICROPROPAGADAS, COMO AGENTE ANTIOFÍDICO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por sua incorporação em formas farmacêuticas ou fitoterápicas como antiofídico para animais.
4. USO DOS EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO DE *Mimosa gracilis* E SUAS VARIEDADES, NATIVAS OU MICROPROPAGADAS, COMO AGENTE ANTIOFÍDICO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por sua ação sinérgica com metabólitos bioativos.
5. USO DOS EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO DE *Mimosa gracilis* E SUAS VARIEDADES, NATIVAS OU MICROPROPAGADAS, COMO AGENTE ANTIOFÍDICO, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** por sua ação sinérgica com moléculas sintéticas bioativas.

**RESUMO:** USO DOS EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO DE *Mimosa gracilis* E SUAS VARIEDADES, NATIVAS OU MICROPROPAGADAS, COMO AGENTE ANTIOFÍDICO. A presente patente de invenção refere-se ao uso dos extratos etanólico (EE) e aquoso (EA) e das frações em solventes orgânicos (FO) padronizados de folhas, caules e/ou raízes de *Mimosa gracilis* subespécies e suas variedades, nativas ou micropropagadas, como agente antiofídico. A atividade antiofídica dos extratos foi testada *in vitro* contra os efeitos do veneno de *Bothrops alternatus* e houve neutralização da atividade do veneno tornando-os candidatos a fármacos ou fitofármacos para auxiliar no tratamento de envenenamento por ofídio.