



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

Número do Processo: BR 10 2017 022753 7

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 23951916000203

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470 - Bairro Fátima I

Cidade: Pouso Alegre

Estado: MG

CEP: 37550-000

País: Brasil

Telefone: (35) 3449-9201

Fax:

Email: reitoria@univas.edu.br

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA E ANTISSEPTICA À BASE DE ACMELLA OLERACEA PARA PELE ÍNTEGRA

Resumo: O presente pedido de patente de invenção trata-se de uma composição anestésica e antisséptica à base de Acmella oleracea para pele íntegra. A composição tem a função de diminuir a sensibilidade da pele, aliviando a dor durante o procedimento de venopunção e no uso de agulha e/ou seringa, que poderá ser um instrumento valioso a ser utilizado na indústria médica. A presente invenção trata-se de um produto elaborado a base do extrato de Acmella oleracea a 90% com Transcutol® a 10% que pode ser um auxílio nos procedimentos invasivos realizados com agulha na pele, podendo vir a ser utilizado como analgésico tópico e antisséptico. O extrato aquoso da A. oleracea quando manipulado com o Transcutol® demonstrou ser eficaz na redução do nível de dor e reduzir a microbiota da pele durante a punção venosa.

Figura a publicar: 3

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 2

Nome: ANA BEATRIZ ALKMIM TEIXEIRA LOYOLA

CPF: 90704690659

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Evaristo Toledo, 135, Setvillage Las Palmas

Cidade: Pouso Alegre

Estado: MG

CEP: 37556-112

País: BRASIL

Telefone: (35) 984 333565

Fax:

Email: analkmim@hotmail.com

Inventor 2 de 2

Nome: CAROLINA GONÇALVES ANDRADE

CPF: 06141002676

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Biólogo, biomédico e afins

Endereço: Rua Sergipe, 85 apto 1002

Cidade: Belo Horizonte

Estado: MG

CEP: 30130-170

País: BRASIL

Telefone: (35) 999 135002

Fax:

Email: carol_gandrade@yahoo.com.br

Documentos anexados

| Tipo Anexo | Nome |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Comprovante de pagamento de GRU 200 | GRU Paga Acmella Oleracea PDF.pdf |
| Desenho | Figuras I.pdf |
| Portaria | PORTARIA.pdf |
| Relatório Descritivo | Relatório Descritivo.pdf |
| Resumo | Resumo.pdf |
| Reivindicação | Reivindicações.pdf |

Acesso ao Patrimônio Genético

- Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

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

INSTRUÇÕES:

A data de vencimento não prevalece sobre o prazo legal. O pagamento deve ser efetuado antes do protocolo. Serviço: 200-Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

ITAU UNIBANCO S/A
 PAGAMENTO TITULOS C/ ESPECIE
 NUMERO DO BANCO: 001
 IDENTIFICACAO DA OPERACAO
 VALOR DO DOCUMENTO: R\$70,00
 VALOR DOS ENCARGOS: R\$0,00
 VALOR DO DESCONTO: R\$0,00
 VALOR TOTAL PAGO: R\$70,00
 DATA DO VENCIMENTO: 08/11/2017
 CODIGO DE BARRAS:
 0019000089 02940916170 09225954172 4
 73370000007000
 INSTITUICAO EMISSORA:
 BANCO DO BRASIL SA
 NOME BENEFICIARIO:
 INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
 RAZAO SOCIAL BENEFICIARIO:
 INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
 CNPJ/CPF BENEFICIARIO: 42.521.088/0001-37
 CNPJ/CPF SACADOR/AVALISTA: 00.000.000/0000-00
 NOME PAGADOR:
 UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAI
 CNPJ/CPF PAGADOR: 23.951.916/0002-03
 PAGAMENTO REALIZADO EM ESPECIE: SIM
 MEIO DE PAGAMENTO UTILIZADO - ESPECIE
 CIRC 0034 5671121
 AUTENTICACAO
 001E4434604120F0A9413102895641963903A2B2
 00000004 235794407 111017 70,00C TITOTIN
 VIA CLIENTE
 CICLO: 11.10.2017/0043412357/10000024
 REALIZADO EM: 11/10/2017 AS 11:21:27
 AGENCIA:2357 FICUSO ALEGRE PR SACADOR

BANCO DO BRASIL | 001-9 | 00190.00009 02940.916170 09225.954172 4 73370000007000 Recibo do Pagador

Nome do Pagador/CPF/CNPJ/Endereço
 UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAI CPF/CNPJ: 23951916000203
 AVENIDA PREFEITO TUANY TOLEDO 470 BAIRRO FATIMA I, POUSO ALEGRE -MG CEP:37550000
 Sacador/Avalista

Nosso-Número | N° Documento | Data de Vencimento | Valor do Documento | (=) Valor Pago
 29409161709225954 | 29409161709225954 | 08/11/2017 | 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
 2234-9 / 333028-1

BANCO DO BRASIL | 001-9 | 00190.00009 02940.916170 09225.954172 4 73370000007000

Local de Pagamento
PAGÁVEL EM QUALQUER BANCO ATÉ O VENCIMENTO

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

Data do Documento | N° Documento | Espécie DOC | Aceite | Data do Processamento | Agência/Código do Beneficiário
 10/10/2017 | 29409161709225954 | DS | N | 10/10/2017 | 2234-9 / 333028-1

Uso do Banco | Carteira | Espécie | Quantidade | xValor | Nosso-Número
 29409161709225954 | 17 | RS | | | 29409161709225954

Informações de Responsabilidade do Beneficiário
 A data de vencimento não prevalece sobre o prazo legal.
 O pagamento deve ser efetuado antes do protocolo.
 Serviço: 200-Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

(-) Valor do Documento
 70,00
 (-) Desconto/Abatimento
 (-) Juros/Multa
 (-) Valor Cobrado

Nome do Pagador/CPF/CNPJ/Endereço
 UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAI CPF/CNPJ: 23951916000203
 AVENIDA PREFEITO TUANY TOLEDO 470 BAIRRO FATIMA I,
 POUSO ALEGRE-MG CEP:37550000
 Sacador/Avalista

Código de Baixa
 Autenticação Mecânica
 Ficha de Compensação



Figuras



Figura 1



Figura 2

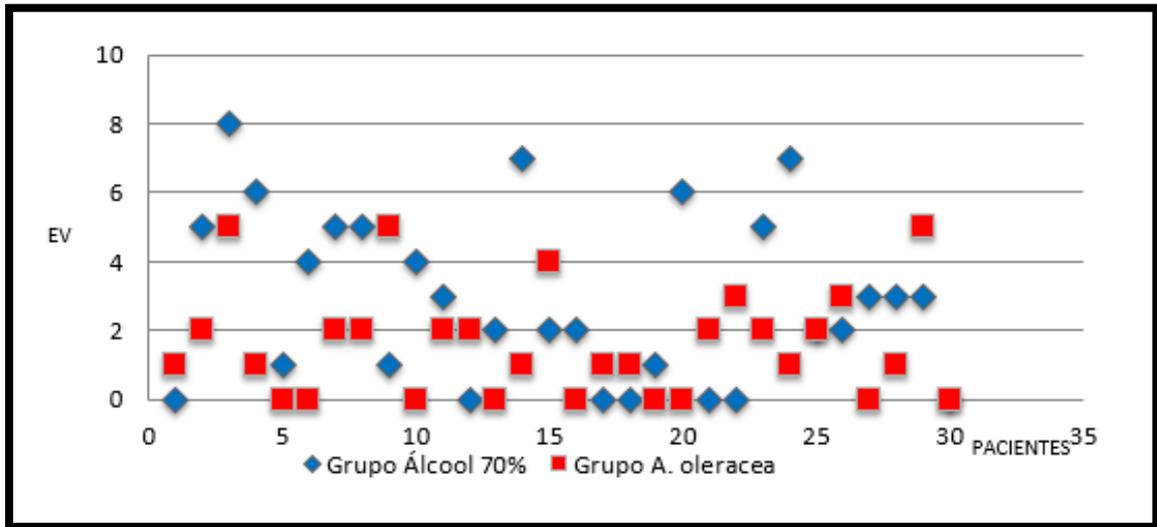


Figura 3

REITORIA

PORTARIA N.º 40/2014

O Professor Doutor Félix Carlos Ocáriz Bazzano, Reitor da Universidade do Vale do Sapucaí, no uso de suas atribuições legais e,

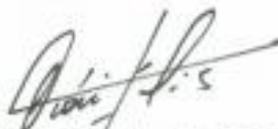
Considerando o disposto no artigo 26 do Estatuto da Univás e após cumprimento das formalidades legais e estatutárias,

RESOLVE:

Art. 1º - NOMEAR o Professor Mestre **Carlos de Barros Laraia** no cargo de Reitor da Universidade do Vale do Sapucaí – Univás.

Art. 2º - Esta Portaria entra em vigor nesta data e revoga todas as disposições em contrário.

Pouso Alegre, 30 de maio 2014.



Prof. Dr. Félix Carlos Ocáriz Bazzano
Reitor

*“COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA E ANTISSÉPTICA À BASE DE ACMELLA
OLERACEA PARA PELE ÍNTEGRA”*

Campo de aplicação

[001] O presente pedido de patente de invenção trata-se de uma composição anestésica e antisséptica à base de *Acmella oleracea* para pele íntegra. A composição tem a função de diminuir a sensibilidade da pele, aliviando a dor durante o procedimento de venopunção e no uso de agulha e/ou seringa, que poderá ser um instrumento valioso a ser utilizado na indústria médica.

[002] A presente invenção trata-se de um produto elaborado a base do extrato de *Acmella oleracea* a 90% com Transcutol[®] a 10% que pode ser um auxílio nos procedimentos invasivos realizados com agulha na pele, podendo vir a ser utilizado como analgésico tópico e antisséptico. O extrato aquoso da *A. oleracea* quando manipulado com o Transcutol[®] demonstrou ser eficaz na redução do nível de dor e reduzir a microbiota da pele durante a punção venosa.

Estado da técnica

[003] Desde os primórdios da humanidade as plantas medicinais são recursos para tratamento de diversas enfermidades. A Organização Mundial da Saúde (OMS) indica que 80% da população mundial já fez uso de plantas medicinais.

[004] O Brasil tem uma rica história no uso de plantas medicinais em tratamentos dos problemas de saúde da população. No âmbito nacional, as plantas dos biomas brasileiros têm sido utilizadas na medicina tradicional pela população para tratar uma variedade de doenças. Acredita-se que o cuidado realizado por meio da utilização das plantas seja favorável à saúde humana desde que o usuário tenha conhecimento de sua finalidade, riscos e benefícios. A partir do conhecimento das plantas medicinais surgiram os medicamentos fitoterápicos. A fitoterapia, *phyton* (planta) e *therapia* (tratamento) é descrita como prática antiga, que vem crescendo entre os programas preventivos e curativos, estimulando pesquisas que avaliam os extratos de plantas na busca por novos produtos com maior atividade terapêutica, baixo custo, biocompatibilidade e menor toxicidade. Os fitoterápicos são medicamentos regulamentados no Brasil que devem apresentar critérios similares de qualidade e segurança aos convencionais.

[005] A maioria dos procedimentos invasivos na pele envolve dor e desconforto, a analgesia tópica adequada é fundamental no tratamento da dor, sobretudo no que diz

respeito à realização de procedimentos invasivos, como é o caso da venopunção.

A punção venosa é um procedimento que consiste no acesso à corrente sanguínea por meio de dispositivos adequados, adjuntos de uma seleção criteriosa do local da punção e de uma eficiente técnica de penetração da veia.

[006] O Transcutol[®] ou éter monoetílico de dietileno glicol é uma substância que tem longa história de uso na cosmética e produtos de aplicação tópica sendo usado em formulações como cotensoativo e melhorador de penetração.

[007] Sendo a punção um procedimento invasivo, tornam-se necessárias medidas de antissepsia para prevenção da contaminação bacteriana da pele no local onde este procedimento será realizado. Os antissépticos tópicos devem ter ação antimicrobiana rápida, efeito residual persistente e não devem ser tóxicos, alergênicos ou irritantes.

[008] Atualmente, utiliza-se álcool a 70% na antissepsia de punções venosas na grande maioria dos serviços de saúde. A atividade antisséptica do álcool ocorre pela desnaturação de proteínas e remoção de lipídios, inclusive dos envelopes de alguns vírus. Para alcançar atividade germicida máxima, o álcool deve ser diluído em água, o que possibilita a desnaturação das proteínas. A concentração recomendada para atingir maior rapidez microbicida é de 70% (KAMPF G, KRAMER A. Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. Clin Microbiol Rev. 2004; 17(4):863-893).

[009] *Acmella oleracea* (*Spilanthes oleracea*; *Spilanthes acmella* var. *oleracea*) popularmente conhecido no Brasil como jambu é um vegetal distribuídos em regiões tropicais e subtropicais, com propriedades químicas importantes.

[010] Algumas atividades biológicas têm sido descritas para *A. oleracea*, como anestésico, anti-inflamatório, analgésico e antitérmico, anti-obesidade, diurético, antioxidante, antimutagênico, inseticida e bacteriostático.

[011] A composição físico-química de folhas frescas de *A. oleracea* apresenta cálcio, fósforo, ferro, água, proteínas, lipídios, carboidratos, fibra, cinza, vitamina B1, B2, niacina, vitamina C e outros elementos químicos. O efeito farmacológico deve-se às suas substâncias químicas, dentre as quais o trans-cariofileno, germacreno D, L-dodeceno, espatulenol e espilantol. A presença de N-alquilamidas sugere que o efeito terapêutico da *Acmella oleracea* está relacionada à sua maior atividade anestésica. *A. oleracea* é uma planta comumente usada em casos de dores de dente e estomatites, na

forma de gargarejo. Na medicina popular, a planta é frequentemente empregada como anestésico local no combate às dores de dente, devido à presença de espilantol, também utilizado em cremes dentais e gomas de mascar. Várias patentes relacionadas à utilização de espilantol ou extrato de *A. oleracea* em cremes dentais e outras formulações para higiene oral foram depositadas nas décadas de 80 e 90, sobretudo no Japão (CAVALCANTI, VMS. Extração de espilantol de *Spilanthus acmella* var. *oleracea* com dióxido de carbono supercrítico. [Tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química; 2008).

[012] A atividade antifúngica e bacteriostática do espilantol também tem sido estudada (BARBOSA AF, CARVALHO MG, SMITH RE, SABBA-SRUR AUO. Spilanthol: occurrence, extraction, chemistry and biological activities. Brazilian Journal of Pharmacognosy [Internet] 2015). Estudos demonstraram também sua ação antibacteriana e anti-inflamatória (WU L, FAN N, LIN M, CHU L, HUANG S, HU C, HAN S. Anti-inflammatory effect so spilanthol from *Spilanthus acmella* on murine macrophage by down-regulation LPS-induced inflammatory mediators. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2008; 53:2341-2349); (ALCANTARA BN, KOBAYASHI YT, BARROSO KF, SILVA IDR, ALMEIDA MB, BARBOSA WLR. Pharmacognostic analyses and evaluation of the in vitro antimicrobial activity of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen (Jambu) floral extract and fractions. J of Med Plants Res. 2014 fev; 9(4):91-96).

[013] Em um estudo sobre a atividade anti-inflamatória e analgésica de *Acmella oleracea*, não se observou efeito adverso ou mortalidade em ratos, administrando até 3g/kg por via oral, em forma de extrato aquoso. A observação de que o espilantol inibe vários citocromos, alerta sobre o risco de interações adversas entre esta substância e outras drogas. O alcalóide espilantol presente nas folhas, ramos e flores da *A. oleracea* (jambu) é descrito em patentes como apropriado para uso anestésico, antisséptico, antirrugas, creme dental, ginecológico, anti-inflamatório, com diversos produtos no mercado, vendidos como remédio e cosmético. Essa é a razão da existência de cinco patentes que utilizam a *A. oleracea* registradas no United States Patent and Trademark Office (Uspto) no período de 2000 a 2006 (uma americana, uma francesa e três japonesas), sete na World Intellectual Property Organization (Wipo) (japonesa, americana, inglesa, dinamarquesa, suíça, brasileira e australiana) no período de 2006 a

2010 e uma no Instituto Nacional de Propriedade Intelectual em 2005. A *A. oleracea* é utilizado também na composição de cremes antirrugas.

[014] Nascimento (2012), em sua dissertação de mestrado, fez um interessante levantamento de várias patentes contendo o extrato de *A. oleracea*, relacionando a presença de espilantol. Essas patentes foram solicitadas por indústrias japonesas para utilização como aditivo para alimentos e bebidas; agente de limpeza em preparações para o corpo e cabelos; uso, juntamente com uma mistura de outras plantas, como produto inseticida, para o controle de insetos e microrganismos em plantas. Na China foi solicitada uma patente para um remédio oriental para utilização no tratamento de resfriados comuns e gripes composto por várias plantas, incluindo *A. oleracea* (NASCIMENTO, AM. Polissacarídeos e metabólitos secundários de *Spilanthes Oleracea* L. (Jambu) [Dissertação] Curitiba: Universidade Federal do Paraná, Ciências-Bioquímica; 2012).

[015] Nascimento (2012) relata ainda que a empresa Ballal BB solicitou a patente de um produto fitoterápico contra infecção por HIV e tratamento de AIDS, obtido a partir do pó da raiz de *A. oleracea*. A empresa Fortune Star requer a patente de uma composição a base de plantas, incluindo *A. oleracea* com atividade fungicida. Uma composição contendo uma mistura de várias plantas, com atividade antibacteriana e antimicrobiana, foi patenteada pela empresa Euro Natural Products. A empresa Dermane & Passaro descreve um produto para o tratamento cosmético antirrugas a base de espilantol puro ou extrato de *A. oleracea* contendo espilantol, com capacidade de inibir a contração de músculos subcutâneos, principalmente da face. A empresa Ikeda Bussa Co Ltd. requer a patente de preparações cosméticas para o corpo e rosto a partir do extrato da raiz de *A. oleracea*, para redução das rugas e antienvhecimento da pele. A patente US2008/0069912 trata do uso de um extrato da *A. oleracea* para efeito botox em uma composição cosmética antirrugas. A Natura Cosméticos S.A. reivindica um processo de preparação de extrato de *A. oleracea* livre de clorofila e seu uso em composições cosméticas. Na patente sob número PI0802053-3, a Natura, em parceria com a UFBA e a UNICAMP, registrou um processo de extração, por meio da tecnologia de fluido supercrítico, de compostos ativos de material vegetal, com o objetivo principal de obter espilantol e outras alcaloides a partir da planta *A. oleracea*.

[016] Não temos conhecimento da utilização de *A. oleracea manipulada com o Transcutol*[®] para analgesia tópica da pele em venopunção.

Problemas do estado da técnica:

[017] No Brasil, existe uma falta crônica de doadores de sangue que pode ser explicada por diversos motivos dentre os quais o medo da picada da agulha.

[018] O EMLA® (Eutectic Mixture of Local Anesthetics) é uma mistura de dois anestésicos locais (lidocaína 2,5% e prilocaína 2,5%) com ação direta sobre os nociceptores da epiderme e derme e terminações nervosas, provocando analgesia local. A sensibilidade à pressão e tato poderá manter-se (FERREIRA, MARIANA SANTIAGO. Cuidados de enfermagem à criança com dor. Diss. [sn], 2014: 207-252).

[019] O creme ELA-Max, comercializado no Brasil com o nome de Dermomax (lidocaína 4%), também é uma formulação tópica bastante utilizada no alívio temporário da dor associada a pequenos cortes que atingem somente a epiderme, pequenas queimaduras (1º grau), irritações e picadas de insetos e também é usado antes de procedimentos como venopunção, injeções intradérmicas, subcutâneas ou intramusculares ou tratamento da pele a laser.

[020] Uma das maiores limitações à utilização da anestesia tópica é a necessidade de aguardar quarenta minutos o contato do anestésico tópico com a pele para que ocorra a absorção.

Vantagens da invenção:

[021] A principal vantagem deste produto elaborado a base do extrato do *Acmella oleracea* a 90% com Transcutol® a 10% é reduzir sensivelmente a dor e ser eficaz na ação antimicrobiana nos procedimentos de venopunção em três minutos após aplicação.

[022] No estudo de Watanabe (WATANABE KM, JAY J, ALICTO C, YAMAMOTO L. Improvement in Likelihood to Donate Blood After Being Offered a Topical Anesthetic. Hawaii Med J. 2011 feb; 70(2):28-29) adultos completaram uma pesquisa de uma página relativas à doação de sangue. Os participantes foram questionados sobre a probabilidade de doar sangue no futuro próximo. E eles foram informados sobre a possibilidade de usar um creme anestésico tópico antes da doação. Posteriormente, a probabilidade de doar sangue foi reavaliada. Os achados deste estudo sugerem que o fornecimento de um anestésico tópico teve um efeito positivo na probabilidade dos participantes do estudo de doarem sangue. Este efeito pois mais positivo ainda entre aqueles que nunca doaram sangue.

Breve descrição das Figuras

[023] Figura 1 – Cultivo da planta *Acmella oleracea* no laboratório de botânica da Univás.

[024] Figura 2: Obtenção do extrato aquoso de *Acmella oleracea*.

[025] Figura 3: Dispersão dos pontos de intensidade de dor pela escala EVN.

Descrição detalhada da invenção

[026] As mudas da planta foram obtidas em feira livre na cidade de Belém-PA e cultivadas em estufa no laboratório de botânica da Univás no período de maio a novembro de 2014, em Pouso Alegre-MG. Observou-se o período de cultivo da planta e a coleta das flores foi realizada em aproximadamente 40 dias após o plantio (FIGURA 1).

[027] A extração da *A. oleracea* foi realizada através de um método intitulado “extração aquosa por infusão” (EAI) (BARBOSA FS, LEITE GLD, PAULINO MAO, GUILHERME DO, MAIA JTLS, FERNANDES RC. Toxicity of extracts of *Cyperus rotundus* on *Diabrotica speciosa*. Acta Sci., Agron. 2011 dec; 33 (4) no mês de setembro de 2015. A escolha do tipo de extração foi embasada na utilização de um agente que não interferisse na atividade antimicrobiana da planta, no caso, água destilada.

[028] Para a extração foram colhidos 106g de flores frescas da planta e transferidas para um triturador acrescido de 200 mL de água destilada. A mistura foi triturada por aproximadamente 10 minutos até a obtenção de uma substância pastosa. Essa substância foi transferida para um Erlenmeyer de 500 mL e incubada em banho de água a 60°C por 60 minutos. Após esse período a substância pastosa foi filtrada a vácuo para obtenção do extrato (FIGURA 2).

[029] O extrato foi encaminhado para uma farmácia de manipulação para acréscimo do Transcutol® na concentração de 10% representando o máximo de concentração do extrato capaz de causar efeito com o mínimo de Transcutol® que pudesse ser incorporado para ser absorvido pela pele íntegra. O produto foi acondicionado em frasco plástico conta-gotas.

Descrição dos experimentos:

[030] Delineamento do estudo: Foi realizado um ensaio clínico, aleatório, controlado com voluntários sadios.

[031] Local: As punções venosas foram realizadas no Ambulatório I do Hospital das Clínicas Samuel Libânio em Pouso Alegre, MG. Os testes microbiológicos foram

realizados no Laboratório de Pesquisas Básicas da Faculdade de Ciências da Saúde, Unidade Central da Universidade do Vale do Sapucaí, na cidade de Pouso Alegre, MG.

[032] Aspectos éticos: Na condução deste estudo foram observadas e seguidas as determinações da Resolução 466/12, do Conselho Nacional de Saúde, que dispõe sobre diretrizes e normas que regulamentam a pesquisa envolvendo seres humanos. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Vale do Sapucaí, sob o parecer número 959.061.

[033] Amostragem e Cálculo amostral: Como não foi encontrado na literatura nenhum estudo que avaliasse a atividade de analgesica da *A. oleracea* na pele íntegra aplicado topicamente, que permitisse usar dados para o cálculo do tamanho da amostra, foi realizado um estudo piloto com 15 pacientes em cada grupo e estes resultados foram utilizados para o cálculo da amostra.

[034] Para o cálculo, foi utilizado o desfecho primário do estudo (dor) através do teste t student (hipótese monocaudal). Utilizando um desvio-padrão de 2,6, uma diferença clinicamente relevante de 2 pontos na escala visual numérica (EVN), com um poder de teste de 90% e considerando um nível de significância de 5%, o número calculado de indivíduos, por grupo, foi de 29.

[035] Critérios de elegibilidade: Critérios de Inclusão: voluntários sadios, com idade entre 18 a 65 anos de ambos os gêneros sem restrição quanto à etnia, escolaridade e classe social, que aceitaram participar da pesquisa, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Critérios de não inclusão: gestantes, pacientes oncológicos, renais crônicos e recusa em participar da pesquisa.

[036] Seleção: A sequência aleatória foi gerada pelo software Randomization Plan. Os indivíduos foram selecionados em ordem aleatória sistemática.

[037] Os voluntários foram aleatoriamente alocados para os grupos:

a) Grupo álcool 70% (n=30): foi utilizado álcool 70% na antisepsia da pele.

b) Grupo *A. oleracea* (n=30): foi utilizado extrato de *A. oleracea* 90% na antisepsia da pele.

[038] Procedimentos: Os voluntários foram recrutados por ordem de chegada ao ambulatório I do Hospital das Clínicas Samuel Libânio em Pouso Alegre, MG. Ao chegar ao ambulatório para coleta de sangue, o voluntário foi esclarecido sobre o estudo e

convidado a participar. Aceitando, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foi então submetido aos procedimentos determinados pelo estudo. As coletas de amostras foram realizadas no próprio ambulatório, no período da manhã, nos horários compreendidos entre 7h30 e 10h00. Todas as punções foram realizadas pelo mesmo flebotomista que não possuía conhecimento a respeito do produto utilizado nos voluntários.

[039] Avaliação Antimicrobiana da *A. oleracea*: O primeiro swab embebido em salina estéril foi coletado da fossa antecubital em região demarcada por campo de papel filtro qualitativo estéril com fenestra de 5cm², da marca Nalco®. O swab foi acondicionado em tubo de vidro estéril com solução salina contendo oito pérolas de vidro. Em seguida o produto sorteado foi aplicado conforme a técnica de antissepsia recomendada pelo laboratório de análises clínicas do HCSL. Aguardou-se três minutos, que foi o tempo estimado para que o produto tivesse ação.

[040] O segundo swab foi coletado da mesma maneira que o primeiro. O paciente foi então encaminhado ao flebotomista do laboratório para realização da punção venosa. Ao término das coletas os swabs foram acondicionados em caixa plástica térmica e encaminhados ao laboratório de pesquisas básicas da Univás para que fossem analisados.

[041] Para a análise, cada swab foi homogeneizado em agitador automático por um minuto com oito pérolas de vidro estéreis que favorecem a remoção de microrganismos do swab para a solução. Após a homogeneização do tubo, foram semeados 50 µL da solução em placas contendo o meio de cultura Plate Count Agar – Standart Methods Agar (PCA) e espalhados por toda a superfície com auxílio de uma alça de Drigalski.

[042] Após a semeadura das amostras, as placas foram colocadas na estufa a uma temperatura de 35°C por um período de 48 horas. Após esse período, as unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas.

[043] Avaliação da dor: Os voluntários fizeram a avaliação da dor após a punção venosa por meio de uma escala unidimensional, a escala visual numérica (EVN) (figura 3). A EVN é uma escala de 11 pontos consistindo dos inteiros de 0 a 10; onde 0 representa "nenhuma dor" e 10 representa "pior dor imaginável". Os voluntários foram instruídos a selecionar um único número que melhor representasse a intensidade da dor.

[044] Resultados: Dentre os 64 voluntários incluídos no estudo quatro foram excluídos, participando 30 voluntários no grupo (a) álcool 70% e 30 no grupo (b) *A. oleracea*. No estudo realizado não houve diferença significativa em relação à média de idade entre os grupos analisados através do Teste de Fisher ($p = 0,906$) (Tabela 1).

Tabela 1: Distribuição etária dos voluntários

| | Idade | Mediana | Média | Desvio Padrão | Valor de p |
|---------------------------------|-------|---------|-------|---------------|--------------|
| Geral | 19-65 | 51 | 48,73 | 12,47 | 0,906 |
| Grupo Álcool 70% | 19-65 | 51 | 49,16 | 12,71 | |
| Grupo <i>A. oleracea</i> | 21-65 | 52 | 48,30 | 12,44 | |

[045] Para a análise do gênero foi utilizado o teste Two Proportion com significância estatística de $p \leq 0,05$. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os homens ($p = 0,806$) e entre as mulheres ($p = 0,785$) nos grupos analisados (Tabela 2).

Tabela 2: Gêneros dos voluntários

| Gênero | Masculino | Feminino |
|---------------------------------|--------------|--------------|
| Geral | 55,0% | 45,0% |
| Grupo Álcool 70% | 56,67% | 43,30% |
| Grupo <i>A. oleracea</i> | 53,33% | 46,67% |
| Valor de p | 0,806 | 0,785 |

[046] A intensidade de dor analisada pela escala EVN no grupo *A. oleracea* foi estatisticamente menor comparado com o grupo (a) álcool ($p=0,0206$ pelo Teste de Man Whitney; Tabela 3).

[047] Pode-se observar através da FIGURA 1 que a dispersão entre os pontos para o grupo (b) *A. oleracea* foi menor que para o grupo álcool 70%, demonstrando maior precisão nas respostas.

Tabela 3: Intensidade de dor pela escala EVN.

| | Mediana | Média de dor EVN | Desvio Padrão | Valor de p |
|---------------------------------|---------|------------------|---------------|---------------|
| Grupo Álcool 70% | 2,5 | 2,90 | 2,44 | 0,0206 |
| Grupo <i>A. oleracea</i> | 1,0 | 1,60 | 1,57 | |

[048] Os resultados da contagem de UFC pela técnica de antissepsia encontram-se na Tabela 4. Os grupos foram analisados através do Teste de Kruskal-Wallis qui-quadrado com significância estatística de $p \leq 0,05$.

Tabela 4: Contagem de UFC antes e após a realização da técnica de antissepsia.

| Grupo | Antes da antissepsia | | Após antissepsia | | Antes/Após valor de p |
|--------------------|----------------------|--------|------------------|-------|-----------------------|
| | Mediana | Média | Mediana | Média | |
| Álcool 70% | 41,5 | 109,20 | 1,0 | 25,27 | 0,0000 |
| <u>A. oleracea</u> | 11,5 | 83,23 | 1,0 | 46,23 | 0,0125 |

[049] A redução na contagem de UFC da microbiota da pele (antes/após) a utilização do álcool foi estatisticamente significativa com $p=0,0000$. Uma significância semelhante também foi observada (antes/após) a utilização da *A. oleracea* com $p=0,0125$ (Tabela 4).

[050] Considerando a grande dispersão dos dados da análise microbiológica no estudo os cálculos comparativos entre o álcool 70% antes/após antissepsia e *Acmella oleracea* antes/após antissepsia demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa entre as medianas dos dois produtos ($p=0,0643$ pelo Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney).

RESUMO

“COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA E ANTISSÉPTICA À BASE DE *ACMELLA OLERACEA* PARA PELE ÍNTEGRA”

O presente pedido de patente de invenção trata-se de uma composição anestésica e antisséptica à base de *Acmella oleracea* para pele íntegra. A composição tem a função de diminuir a sensibilidade da pele, aliviando a dor durante o procedimento de venopunção e no uso de agulha e/ou seringa, que poderá ser um instrumento valioso a ser utilizado na indústria médica.

A presente invenção trata-se de um produto elaborado a base do extrato de *Acmella oleracea* a 90% com Transcutol® a 10% que pode ser um auxílio nos procedimentos invasivos realizados com agulha na pele, podendo vir a ser utilizado como analgésico tópico e antisséptico. O extrato aquoso da *A. oleracea* quando manipulado com o Transcutol® demonstrou ser eficaz na redução do nível de dor e reduzir a microbiota da pele durante a punção venosa.

REIVINDICAÇÕES

- 1) “COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA E ANTISSÉPTICA À BASE DE ACMELLA OLERACEA PARA PELE ÍNTEGRA”, caracterizado por ser composta a base do extrato de *Acmella oleracea* a 90% com Transcutol® a 10%.
- 2) “COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA E ANTISSÉPTICA À BASE DE ACMELLA OLERACEA PARA PELE ÍNTEGRA”, de acordo com as reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a composição está na forma farmacêutica de solução destinadas a aplicação tópica.
- 3) “COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA E ANTISSÉPTICA À BASE DE ACMELLA OLERACEA PARA PELE ÍNTEGRA”, de acordo com as reivindicações 1 e 2 caracterizado pelo fato de que a solução está na forma farmacêutica para uso em pele íntegra.
- 4) “COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA E ANTISSÉPTICA À BASE DE ACMELLA OLERACEA PARA PELE ÍNTEGRA”, de acordo com as reivindicações 1 a 3 caracterizado pelo fato de que a solução está na forma farmacêutica para reduzir a dor em três minutos após aplicação e ser eficaz na ação antimicrobiana nos procedimentos de venopunção.
- 5) “COMPOSIÇÃO ANESTÉSICA E ANTISSÉPTICA À BASE DE ACMELLA OLERACEA PARA PELE ÍNTEGRA”, de acordo com as reivindicações 1 a 4 está na forma farmacêutica para ser administrado em seres humanos e animais nos procedimento de venopunção e no uso de agulha e/ou seringa.