

UTILIZAÇÃO DO ENALAPRIL EM REPRODUÇÃO DE CAPRINOS: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

USE OF REPRODUCTION OF GOATS IN ENALAPRIL: AN EXPLORATION TECHNOLOGY

João Eduardo Pinto Pires¹; Francisco Airton Pinto Pires²; Amilton Paulo Raposo Costa³; Maria Rita de Moraes Chaves Santo⁴;

¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – RENORBIO
Universidade Federal do Piauí – UFPI – Teresina/PI – Brasil
joaoeduardopires@gmail.com

²Estudante de Licenciatura em Química
Universidade Estadual do Piauí – UESPI – Teresina/PI – Brasil
airtonpiresq@gmail.com.br

³Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – RENORBIO
Universidade Federal do Piauí – UFPI – Teresina/PI – Brasil
amilfox@uol.com.br

⁴Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – RENORBIO
Universidade Federal do Piauí – UFPI – Teresina/PI – Brasil
mritamchaves@gmail.com

Resumo

A caprinocultura tem um importante papel sócio-econômico na região nordeste, embora com índices produtivos ainda baixos. Uma forma de melhorar estes índices é o aperfeiçoamento das técnicas reprodutivas, hoje onerosas e pouco eficientes. Mesmo uma das mais consolidadas, a transferência de embriões enfrenta tais dificuldades pelos baixos índices de produção de embriões viáveis em cada superovulação. O conhecimento de certos fatores produzidos durante, e que regulam o processo de desenvolvimento e maturação folicular pode ser um alternativa promissora. Entre esses fatores, os componentes do Sistema Renina-Angiotensina vem sendo objeto de pesquisas por pesquisadores do mundo inteiro, com resultados bastante significativos do uso do Enalapril na melhora da quantidade e qualidade de embriões produzidos por superovulação em cabras, por meio de uma dose baseada no uso humano e por um período de tratamento de 11 dias. Portanto objetivo foi realizar uma prospecção identificando as principais pesquisas e patentes do enalapril para uso nas técnicas da reprodução em caprinos, visando elaboração de um produto comercial

Palavras-chave: Prospecção, enalapril, terapêutica.

Abstract

The goat has an important socio-economic role in the Northeast, though still with low production rates. One way to improve these indices is the improvement of reproductive biotechnologies today costly and inefficient. Even one of the consolidated embryo transfer faces such difficulties by producing low levels of viable embryos in each superovulation. The knowledge of certain factors produced during and regulate the process of development and follicular maturation may be a promising alternative. Among these factors, the components of the renin-angiotensin system has been the subject of research by researchers worldwide, with significant results in the use of Enalapril improves the quantity and quality of embryos produced by superovulation in goats by means of a dose based in human use and a treatment period of 11 days. Therefore objective was to conduct a survey to identify the main research and enalapril patents for use in biotechnical reproduction in goats, targeting development of a commercial product.

Key-words: exploration, enalapril, therapy.

1. Introdução

Desde sua domesticação, há cerca de 10.000 anos, a espécie caprina vem ocupando um papel cada vez mais importante na exploração e produção de alimentos. Esses animais possuem uma alta capacidade de adaptação a condições adversas, o que permitiu aos caprinos se espalharem desde áreas geladas a tropicais e desérticas, suportando condições extremas de clima, relevo e solo. Com exceção das zonas polares, a criação de caprinos está presente em todas as partes do mundo, embora tenha mais destaque nas regiões de clima semi-árido. Assim, os caprinos são animais que conseguem adaptar-se bem às diversidades e dificuldades impostas pelo clima seco da região Nordeste do Brasil e conseguem manter o potencial de produção de leite e carne. A caprinocultura possui grande importância para o desenvolvimento da agropecuária do Nordeste brasileiro por representar fonte de proteína para o consumo humano e fonte de renda através da comercialização da carne, leite e couro desses animais.

Mesmo sendo um negócio economicamente rentável, a produção/oferta de carne caprina não tem aumentado na mesma proporção da demanda em todo o Brasil. Estes dados justificam a importância do agronegócio da caprinocultura como estratégia para o desenvolvimento rural, visto que esta é uma atividade chave e pode gerar um grande impulso na economia nordestina, caso a sua integração agroindustrial seja adequadamente localizada, conduzida e estimulada.

Dentro dessa perspectiva, há uma necessidade da aplicação de técnicas de reprodução assistida com o objetivo de aumentar a eficiência reprodutiva e produtiva do rebanho, para que possa haver um aproveitamento mais eficiente dos melhores genótipos disponíveis. Muitos avanços têm sido obtidos nos últimos anos, no campo das biotécnicas reprodutivas, no entanto, muitas delas têm apresentado limitações no seu desenvolvimento e aplicação nos pequenos ruminantes (caprinos

e ovinos) tradicionalmente criados no nordeste brasileiro e de grande importância econômica e social. Mesmo a mais antiga dessas técnicas, a Inseminação Artificial (IA), em caprinos, ainda enfrenta problemas de baixa eficiência, quando feita em tempo fixo, devido à baixa sincronização das ovulações, com índices de fertilidade entre 25 e 45%.

Este insucesso pode provir do desconhecimento e falta de controle dos efeitos de certos fatores que regulam as etapas de desenvolvimento, maturação folicular e ovulação. Exemplo disso são os peptídeos do Sistema Renina-Angiotensina (SRA) que já tiveram sua presença, produção e alguns efeitos descritos nos ovários (YOSHIMURA et al., 1996; COSTA et al., 2003).

O SRA é considerado um dos mais importantes sistemas regulatórios para a homeostase cardiovascular e do equilíbrio hidroeletrólítico (SANTOS et al., 2000). Este sistema tem influência sobre as mais variadas funções orgânicas, envolvendo múltiplos mediadores, receptores e mecanismos de sinalização intracelular variados. Classicamente, o SRA age de modo endócrino, sendo a renina (enzima liberada pelo aparelho justaglomerular renal) responsável por clivar o angiotensinogênio (globulina liberada pelo fígado) em Ang I (um decapeptídeo) que por sua vez é clivada em Ang II pela Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) (SANTOS et al., 2000).

Nas últimas décadas, vários estudos contribuíram para mudar a visão clássica do SRA como um sistema com um único produto final biologicamente ativo para o conceito mais flexível de um sistema com múltiplos mediadores de respostas biológicas. Todos os componentes do SRA já foram encontrados em tecidos como coração, cérebro, rins, glândulas adrenais, vasos sanguíneos e órgãos reprodutores, permitindo distinguir um SRA local e um circulante. Entre estes órgãos, estão os ovários (YOSHIMURA et al., 1996; COSTA et al., 2003).

Recentemente, foi detectada a presença do receptor de Ang-(1-7) em ovário de ratas durante todo o ciclo estral (COSTA et al., 2003). Tem sido sugerido que o metabolismo da Ang-(1-7) pode envolver a participação da ECA, visto que inibição desta, através da administração um inibidor de ECA (Lisinopril), pode reduzir a degradação da Ang-(1-7), inibindo sua conversão em Ang-(1-5) e aumentando sua biodisponibilidade (CHAPPELL et al., 1998). Além disso, a administração de Lisinopril pode ainda aumentar a disponibilidade de Ang I, e assim proporcionar maior produção de Ang-(1-7) através da via PEP.

Pesquisas realizadas no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais mostraram que a Ang-(1-7) está presente em ovário de rata e que sua concentração varia durante o ciclo estral, sendo as concentrações mais altas observadas no proestro e estro (COSTA et al., 2003). Verificou-se também aumento da produção de estradiol e progesterona em ovários de coelhas perfundidos *in vitro* com

Ang-(1-7) (VIANA, 2005). A Ang-(1-7) também aumentou a taxa de ovulação em ovários de coelhas perfundidos *in vitro* (VIANA, 2005).

A Enzima Conversora de Angiotensina (ECA), enzima endotelial que converte Angiotensina I em Angiotensina II, pode participar também no metabolismo da Ang-(1-7), visto que sua inativação, por meio de seus inibidores (Lisinopril, Enalapril e outros), pode reduzir o metabolismo da Ang-(1-7), inibindo sua conversão em Ang-(1-5) e aumentando sua biodisponibilidade. uso do inibidor da ECA, captopril, aumentou o fluxo sanguíneo tanto para o útero como para o ovário em éguas, o que pode acarretar em um maior fluxo de nutrientes, fatores de crescimento e hormônios, aumentando a atividade desses órgãos (CHAPPELL et al., 1998).

Dentre os inibidores da ECA, o Enalapril, na forma do sal pró-fármaco (maleato de enalapril), apresenta a vantagem de poder ser utilizado em apenas uma dose diária. Após administração por via oral, este sal é rapidamente absorvido e, então, hidrolisado no fígado à enalaprilato, que é um inibidor específico da ECA, de longa ação, com meia vida efetiva de 11 horas. A inibição da ECA resulta na diminuição da angiotensina II plasmática e da secreção de aldosterona (JACKSON, 2010).

Com base nesses conhecimentos, especialmente no fato de o inibidor de ECA aumentar a biodisponibilidade de Ang-(1-7), demonstrou-se em dois experimentos independentes, que a adição do Enalapril, inibidor de ECA, ao protocolo convencional de superovulação em cabras, à base de progesterona, FSH e Prostaglandina F_{2α}, aumentou a produção de estrógeno associado a um maior número de embriões transferíveis, melhorou a qualidade de embriões, aumentou o número de gestações e produtos nascidos por transferência de embriões e, em cabras submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo, aumentou as taxas de prenhez, parição e gemelaridade. Nesses três experimentos o Enalapril foi utilizado em aplicações subcutâneas, durante 11 dias.

Embora estes resultados sejam muito promissores, falta muito a ser conhecido no sentido de elucidar os mecanismos fisiológicos e farmacológicos por meio dos quais se obtêm esses resultados, além de determinar parâmetros terapêuticos que viabilizem sua aplicabilidade prática nas biotécnicas da reprodução animal que envolvam a estimulação ovariana, principalmente a transferência de embriões e inseminação artificial em tempo fixo.

Em virtude da grande importância do enalapril, principalmente por ser largamente prescrito pela classe médica, essa prospecção tem por objetivo identificar as principais pesquisas do enalapril para uso em medicina.

2. Metodologia

A prospecção foi realizada com base nos pedidos de patentes no European Patent Office (EPO), na World Intellectual Organization (WIPO), no United States Patent and Trademark Office (USPTO) e no banco de dados do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) do Brasil (Tabela 1). O levantamento foi feito em junho de 2014, utilizando como palavras chave os termos Enalapril, disfunções ovarianas, enalaprilovulation, enalaprilovaries e enalaprilanimals. Os termos em inglês foram utilizados para as bases internacionais, enquanto que os termos em português foram utilizados para a busca de documentos na base nacional, sendo considerados válidos os documentos que apresentassem esses termos no título e/ou resumo. Os gráficos foram gerados no Excel 2013.

3. Resultados e discussão

As palavras chave utilizadas na pesquisa nas bases são apresentadas na Tabela 1 com os respectivos números de documentos encontrados. Utilizando a palavra chave Enalapril foram encontradas 12 patentes na base do INPI, 28 patentes na base USPTO, 313 na Espacenet, 301 na WIPO, totalizando 654 patentes, já quando se pesquisa a palavra-chave disfunções ovarianas/*ovariandysfunction* encontra-se 1 patente na base de dados INPI, 72 na base USPTO, 170 na base Espacenet e 222 na WIPO, totalizando 465 patentes, quanto ao uso em animais encontrou-se apenas patentes nas bases internacionais, sendo 1 na USPTO, 3 na espacenet e 9 na WIPO. A pesquisa foi então conduzida no sentido de explorar melhor as informações obtidas nos banco de dados, como intuito de caracterizar essas patentes considerando a distribuição de patentes por país, ano de depósito e a Classificação Internacional de Patente (CIP).

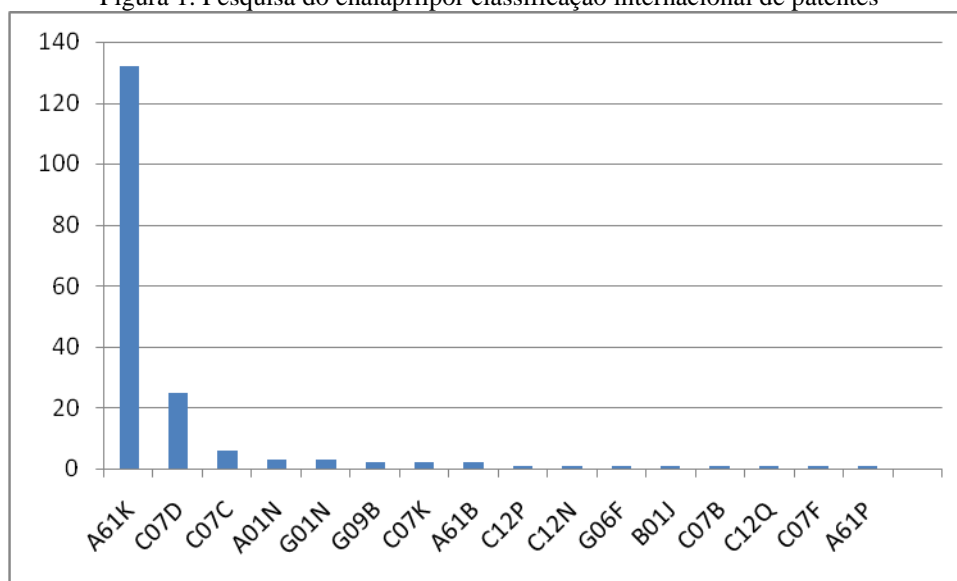
Tabela 1. Número de depósitos de patentes localizadas nas bases.

Palavras – chave	INPI	USPTO	Espacenet	WIPO
Enalapril	12	28	313	301
Disfunções ovarianas/ <i>ovariandysfunction</i>	1	72	170	222
<i>Enalaprilovulation</i>	-	0	0	0
<i>Enalaprilovaries</i>	-	0	0	0
<i>Enalaprilanimals</i>	-	1	3	9

Fonte: Espacenet (2014)

A Classificação Internacional de Patentes (CIP) é um formato importante para agilizar as buscas nas bases de dados de patentes, nas quais estão classificadas de acordo com a aplicação. São divididas em 8 seções, 21 subseções, 120 classes, 628 subclasses e 69.000 grupos (SERAFINI et al., 2012). Das patentes localizadas no banco de dados nacional constatou-se que a subclasse que apareceu com maior número de repetições foi a A61K, que está relacionada a preparações para fins médicos, odontológicos ou higiênicas, seguida das subclasses C07D, que engloba compostos heterocíclicos; A61P, que é engloba compostos químicos com atividade terapêutica (figura 1).

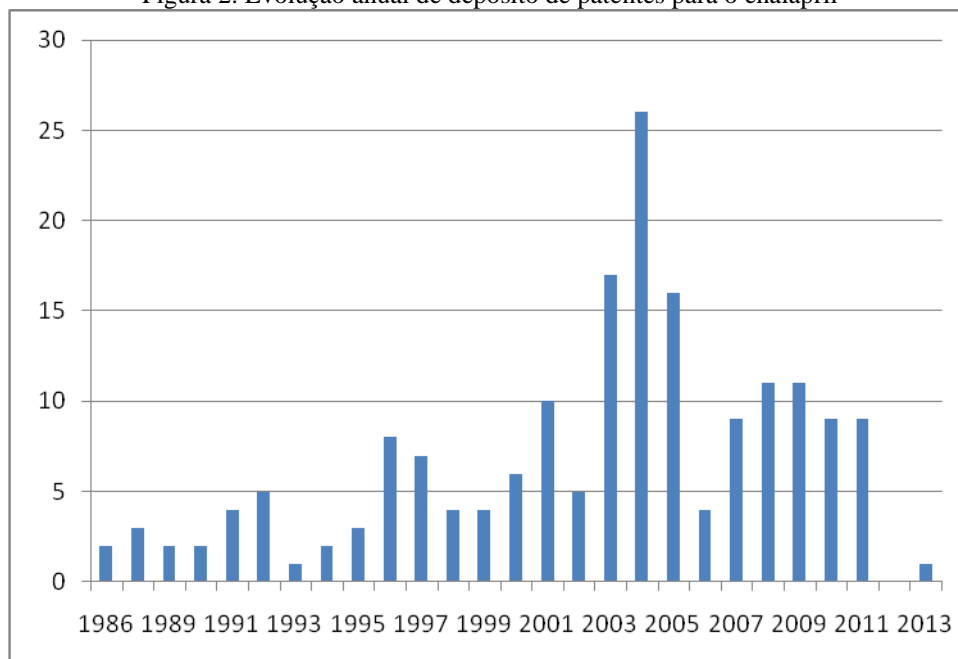
Figura 1. Pesquisa do enalaprilpor classificação internacional de patentes



Fonte: Espacenet (2014)

Utilizando os 313 pedidos de patentes depositados no banco de dados Espacenet com a palavra chave enalapril verificou-se que nos anos de 2003 a 2005 foram os anos que mais houve depósito de patentes e que em 2004 vinte e seis patentes foram depositadas, sendo assim, o ano que mais houve patente. Entretanto, de 2009 até os dias atuais houve diminuição dos depósitos o que demonstra diminuição das pesquisas científicas em relação aos processos terapêuticos convencionais envolvendo enalapril, contudo, com a descoberta recente da sua atividade e eficiência na atividade reprodutiva, espera-se a retomada do aumento das patentes depositadas. Em 2012 foi o único ano que não houve depósito de patentes. A distribuição dessas patentes por CIP (código Internacional de patente) é mostrado na Figura 2.

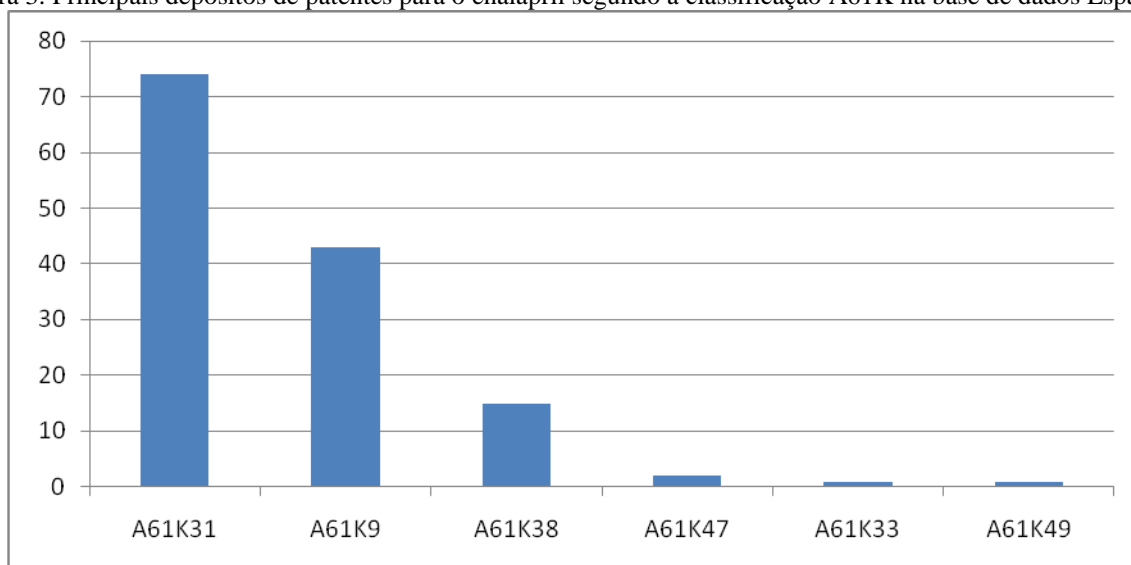
Figura 2. Evolução anual de depósito de patentes para o enalapril



Fonte: Espacenet (2014)

De acordo com a figura 3, temos a maior parte das patentes depositadas junto ao Espacenet de patentes na classificação de preparação contendo ingredientes orgânicos ativos, em seguida, preparações que foram caracterizadas pela sua forma física e posteriormente as preparações que contem peptídeos. As parcerias de pesquisa entre os setores acadêmico e industrial precisam ser fomentadas para a estratégia do Brasil em desenvolver novas tecnologias de obtenção de produtos farmacêuticos, os formulados com enalapril para uso em reprodução são uma descoberta que pode ser uma alternativa viável para o incremento da produção de produtos derivados das atividades pecuárias. (BUENO, 2014).

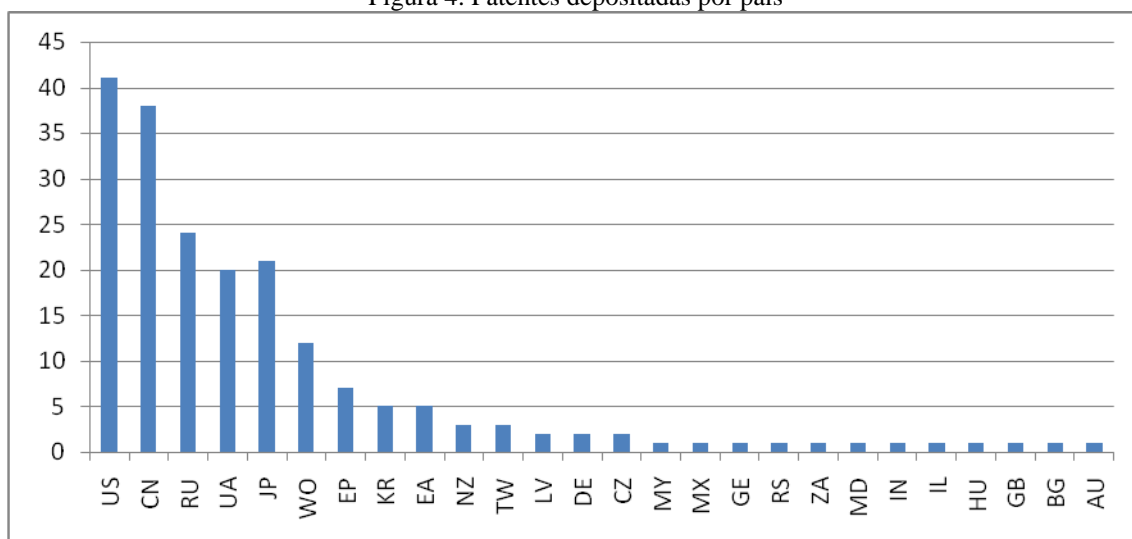
Figura 3. Principais depósitos de patentes para o enalapril segundo a classificação A61K na base de dados Espacenet.



Fonte: Espacenet (2014)

A figura 4 mostra que os Estados Unidos possuem o maior número de patentes na base de dados Espacenet, seguida da China e Rússia. O Brasil não apresentou depósito de patentes em banco de dados internacional. Nos países mais desenvolvidos, as patentes são corriqueiramente utilizadas pelas empresas inovadoras como ferramentas para dificultar a imitação dos concorrentes. No Brasil, entretanto, é senso comum que as patentes são de pouca utilidade. Apesar da harmonização do sistema de patentes e de seu fortalecimento no mundo, ainda há uma grande variedade entre os países quanto à eficácia e quanto à eficiência desse sistema. No Brasil, por exemplo, o INPI (órgão do governo responsável pela concessão de patentes no país) divulgou em sua home page em 2010 que um pedido de patente para ser concedido leva, em média, oito anos. Isso é quase metade do tempo de vida de uma patente (20 anos). Não é de se espantar, portanto, o pouco interesse das empresas no Brasil pelas patentes.

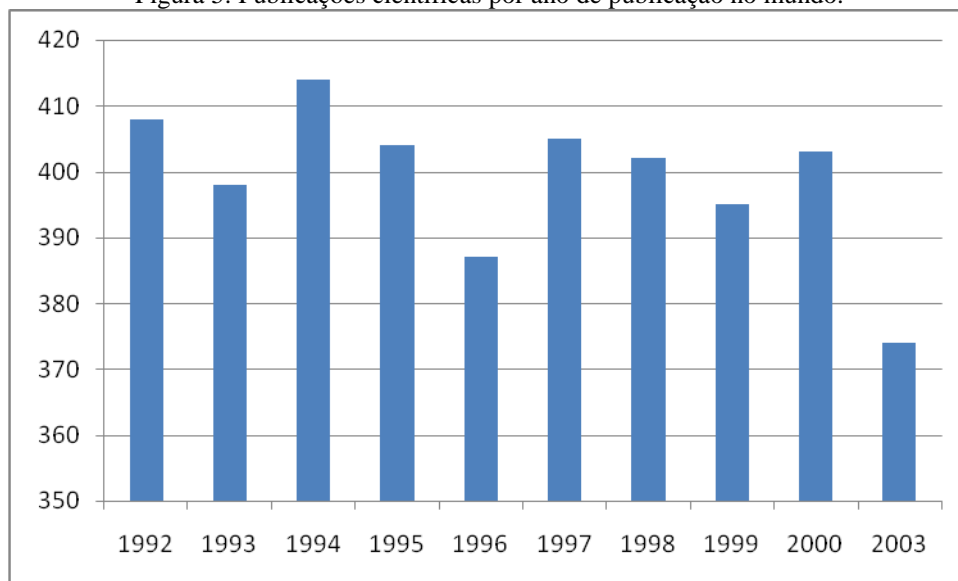
Figura 4. Patentes depositadas por país



Fonte: Espacenet (2014)

Na prospecção científica demonstrada na figura 5, verificou-se que a maioria das publicações para o enalapril de artigos científicos se concentrou na década de 90, sendo o ano de destaque o de 1994, com mais de 400 artigos publicados sobre o tema.

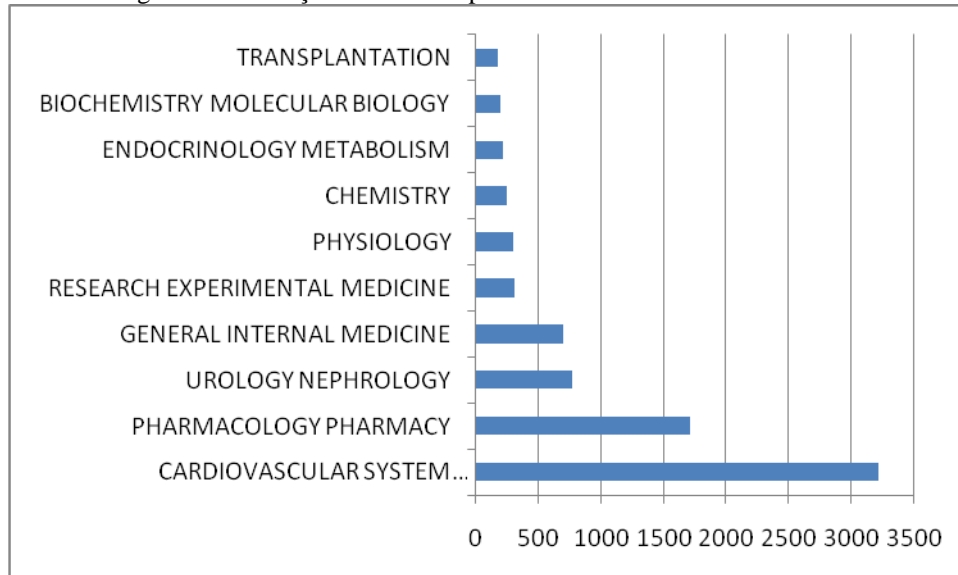
Figura 5. Publicações científicas por ano de publicação no mundo.



Fonte: Web of Science (2014)

Na figura 6, verificou-se que a maioria dos artigos publicados para o enalapril concentrou-se na área do sistema cardiovascular, porém outros artigos também englobam a farmacologia, urologia, medicina interna, pesquisas experimentais, fisiologia, química, metabolismo endócrino, bioquímica molecular e transplante, o que mostra a diversidade na aplicação dessa substância.

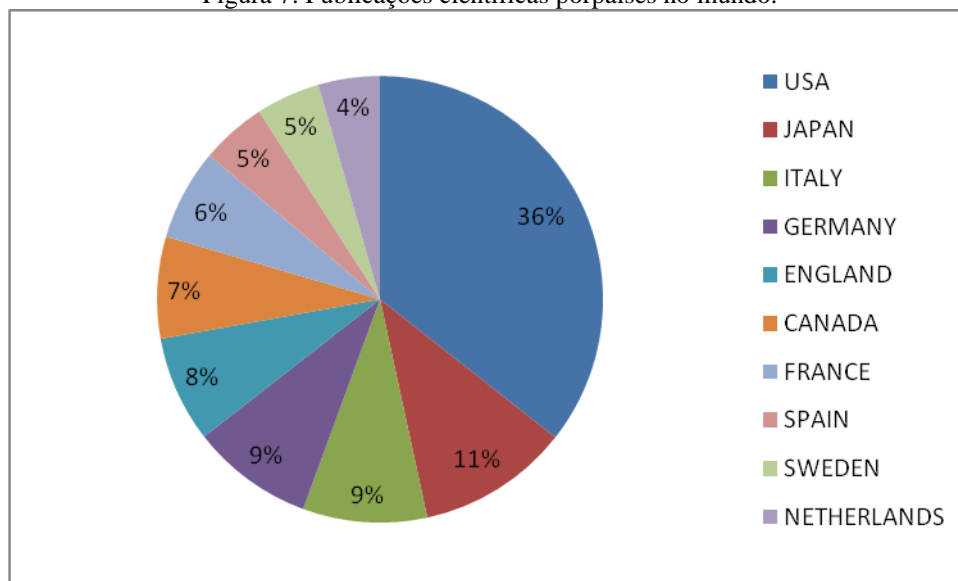
Figura 6. Publicações científicas por área de conhecimento no mundo.



Fonte: Web of Science (2014)

Na figura 7, verificou-se que a maioria dos artigos publicados para o enalapril estão nos Estados Unidos, seguidos pelo Japão e Itália, porém outros países também publicam artigos sobre o enalapril, demonstrando o interesse de diversos povos pelo uso da substância.

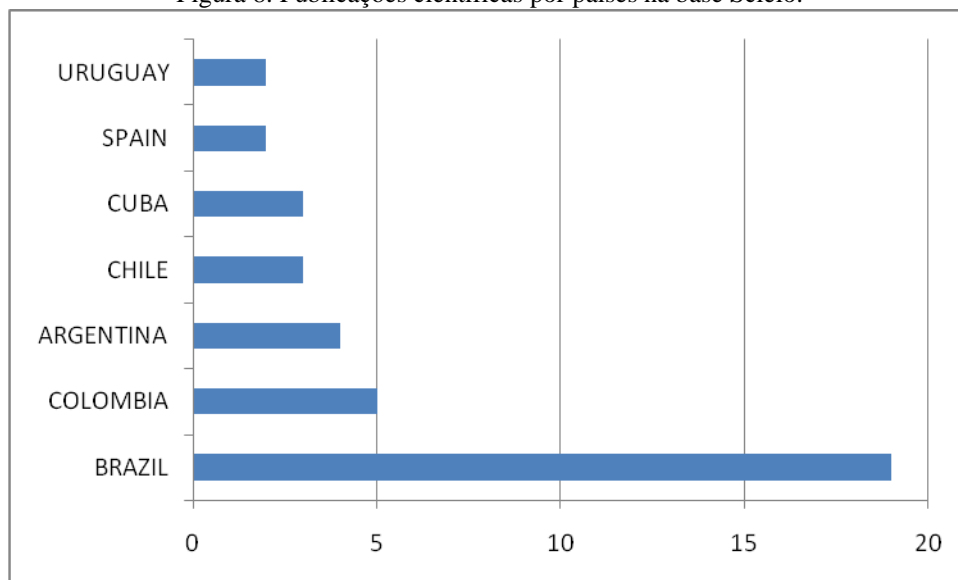
Figura 7. Publicações científicas por países no mundo.



Fonte: Web of Science (2014)

Na figura 8, tem-se as publicações na base de dados Scielo onde observa-se que a maioria dos artigos publicados para o enalaprilsão brasileiros, seguidos pela Colômbia e Argentina, demonstrando que o Brasil possui grupos de pesquisas que desenvolvem pesquisas nessa substância.

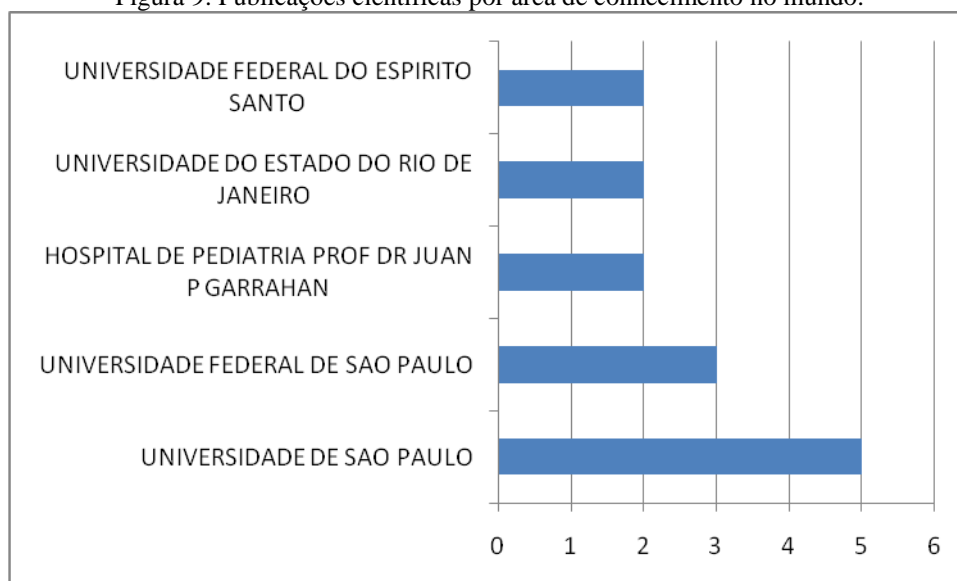
Figura 8. Publicações científicas por países na base Scielo.



Fonte: Web of Science (2014)

Na figura 9, verificou-se que a Universidade de São Paulo possui o maior número de artigos publicados para o enalaprilsão, seguida da Universidade Federal de São Paulo.

Figura 9. Publicações científicas por área de conhecimento no mundo.



Fonte: Web of Science (2014)

Uma avaliação global dos dados encontrados nesta prospecção considera o enalapril com possibilidades futuras ilimitadas para uso em composições de medicamentos e fármacos para uso em reprodução de animais, abrindo uma nova perspectiva para pesquisas futuras nessa área do conhecimento e alavancando as pesquisas com enalapril, assim como observou-se para o seu uso em outras áreas do conhecimento durante os anos 90 quando foi tão bem estudado por todo o mundo.

4. Conclusão

Levando em consideração as bases que foram consultadas, pode-se observar que o país que possui o maior número de patentes nas bases depositadas om enalapril é o Estados Unidos.

De acordo com as patentes que estão nas referidas bases, o período em que houve um maior número de depósitos de patentes corresponde ao ano de 2003 a 2005, Entretanto, de 2009 até os dias atuais houve diminuição dos depósitos o que demonstra diminuição das pesquisas científicas em relação aos processos terapêuticos convencionais envolvendo enalapril, contudo, com a descoberta recente da sua atividade e eficiência na atividade reprodutiva, espera-se a retomada do aumento das patentes depositadas.

A maior parte das patentes classifica-se como A61K, para fins médicos, odontológicos ou higiênica. Foi possível analisar ainda, que até o presente momento que no Brasil houve um número ainda insatisfatório de patentes envolvendo o enalapril.

Quanto a prospecção científica fica evidente a necessidade de continuação dos estudos com enalapril para uso na reprodução, pois há evidencias do uso nessa área do conhecimento como

demonstrado recentemente, fato que pode alavancar o número de artigos publicados, bem como, o número de patentes depositadas.

Referências

ANDRIOLI, A.; SIMPLÍCIO, A. A.; VISITIN, J. A.; SOARES, A. T. Superovulação em caprinos da raça Moxotó com FSH-p. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* v.37 n.1, 2000.

AZEVEDO, M.B.M. et al. Biological activities of violacein, a new antitumoralindole derivative in an inclusion complex with Cyclodextrin. *J InclPhenomMacrocyclChem.* v. 37, p. 93-101, 2000.

BUENO, M. N. Maleato de Enalapril Associado à Reprodução Animal: Nova Perspectiva de Melhoria dos Índices Reprodutivos em Caprinos (*Capra AegagrusHircus*, Linnaeus, 1758). 2014. Tese (Doutorado em Ciência Animal) –Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2014.

COSTA, A. P.; FAGUNDES-MOURA, C. R.; PEREIRA, V. M.; SILVA, L. F.; VIEIRA, M. A.; SANTOS, R. A.; DOS REIS, A. M. Angiotensin-(1-7): a novel peptide in the ovary. *Endocrinology*, v.144, n.5, p.1942-1948, 2003.

JACKSON, E.K. Renina e angiotensina. In: BRUTON et al.(ed). Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 11 ed. Porto Alegre, AMGH Editora, 2010.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento, BRASIL. Decreto nº 5.053, de 22 de abril de 2004. Aprova o Regulamento de Fiscalização de Produtos de Uso Veterinário e dos Estabelecimentos que os Fabricam ou Comerciam, e dá outras providências, Brasília, DF. Disponível em:<http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2004/decreto/d5053.htm>. Acesso em: 09nov. 2013.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento, BRASIL. Instrução Normativa nº 26, de 29 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para a elaboração de partida-piloto de produto de uso veterinário de natureza farmacêutica. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 29 set. 2005. Disponível em:<<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=1872912962>>. Acesso em: 09 nov. 2013.

PAAVOLA, A.; YLIRUUSI, J.; KAJIMOTO, Y.; KALSO, E.; WAHLSTRÖM, T.; ROSENBERG, P. Controlled release of lidocaine from injectable gels and efficacy in rat sciatic nerve block. *Pharm Res.* v. 12, p. 1997-2002, 1995.

RIBEIRO, S. D. DE A. Criação racional de caprinos. 7. ed. São Paulo: Nobel, 1997. ROBERTSON, I.; NELSON, R. E. Certificação e identificação de embriões. In: International Embryo Transfer Society. USA, abril, 1998. Trad. OLIVEIRA FILHO, E. B. Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões. Uberlândia:SBTE, 1999. Cap. 9, p.109-122.

SANTOS, R. A.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J.; ANDRADE, S. P. Angiotensin-(1-7): an update. *RegulPept*, v.91, n.1-3, p.45-62.2000.

SERAFINI, M. R.; QUINTANS, J. S. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, M. R. V.; QUINTANS JUNIOR, L. J. Mapeamento de tecnologias patenteáveis com o uso da hecogenina. *Revista Geintec*, v. 2, n. 5, p. 427-435, 2012.

TONELLOTTI DOS SANTOS, J.; FERREIRA, R.; GASPERIN, B. G.; SIQUEIRA, L. C.; DE OLIVEIRA, J. F.; SANTOS, R. A.; REIS, A. M.; GONCALVES, P. B. Molecular characterization and regulation of the angiotensin-converting enzyme type 2/Angiotensin-(1-7)/MAS

receptor axis during the ovulation process in cattle. *J ReninAngiotensinAldosteroneSyst*, v.13, n.1, p.1-8, 2011.

VIANA, G. E. N. Angiotensina-(1-7) em ovários de coelha: efeitos sobre a esteroidogênese e ovulação. 2005. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

YOSHIMURA, Y.; KARUBE, M.; AOKI, H.; ODA, T.; KOYAMA, N.; NAGAI, A.; AKIMOTO, Y.; HIRANO, H.; NAKAMURA, Y. Angiotensin II induces ovulation and oocyte maturation in rabbit ovaries via the AT2 receptor subtype. *Endocrinology*, v.137, p. 1204-1211, 1996.

Recebido: 21/07/2014

Aprovado: 29/08/2015