

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0900614-1 A2**



(22) Data de Depósito: 13/02/2009
(43) Data da Publicação: 28/06/2011
(RPI 2112)

(51) *Int.Cl.:*
A61K 36/38 2006.01
A61P 25/24 2006.01

(54) Título: **EXTRATO VEGETAL NEUROATIVO,
COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO
O MESMO E PROCESSO PARA SUA PRODUÇÃO**

(73) Titular(es): Universidade Federal do Rio Grande do Sul -
UFRGS, Université de Rouen

(72) Inventor(es): ALICE FIALHO VIANA, GILSANE LINO VON
POSER, JEAN CLAUDE DO REGO, JEAN COSTENTIN

(57) Resumo: EXTRATO VEGETAL NEUROATIVO,
COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO O MESMO E
PROCESSO PARA SUA PRODUÇÃO. A presente invenção pertence
ao campo dos extratos vegetais com atividade sobre o sistema
nervoso central. Especificamente o extrato vegetal da presente
invenção é um extrato obtido de *Hypericum polyanthemum* e
compreende o composto uliginosina B e compostos da classe dos
benzopiranos. A presente invenção compreende ainda uma
composição farmacêutica compreendendo tal extrato que apresenta
ação farmacológica em doenças psiquiátricas, como de distúrbios do
humor, especificamente, atividade anti-depressiva.



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

EXTRATO VEGETAL NEUROATIVO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO O MESMO E PROCESSO PARA SUA PRODUÇÃO

5 Campo da Invenção

A presente invenção pertence ao campo dos extratos vegetais com atividade sobre o sistema nervoso central. Especificamente o extrato vegetal da presente invenção é um extrato obtido de *Hypericum polyanthemum* e compreende o composto uliginosina B. A presente invenção compreende ainda
10 uma composição farmacêutica compreendendo tal extrato que apresenta atividades sobre os distúrbios do humor, especificamente, atividade anti-depressiva, bem como um processo para obtenção de tal extrato.

Antecedentes da Invenção

15 Os psicofármacos constituem uma classe de fármacos com fundamental necessidade de desenvolvimento. Foram introduzidos na terapêutica no final da década de 50 e propiciaram uma revolução no tratamento das doenças psiquiátricas e uma própria mudança de atitude diante destas, visto a possibilidade de uma maior compreensão de seu substrato biológico (Feighner,
20 1999). O conhecimento das bases neuroquímicas da depressão e esquizofrenia, por exemplo, está estritamente relacionado com o conhecimento dos mecanismos de ação de antidepressivos e antipsicóticos. No entanto, a totalidade dos fenômenos bioquímicos relacionados com estas doenças está longe de ser completamente elucidada. Da mesma forma, o mecanismo de
25 ação exato de muitos destes fármacos ainda não é totalmente compreendido. Soma-se a isto o fato de que cerca de 35% dos pacientes psiquiátricos não respondem adequadamente ao tratamento farmacológico, e de que, mesmo a resposta terapêutica adequada, é acompanhada, na maioria das vezes, por reações adversas importantes (Berton e Nestler, 2006).

30 Entretanto, a grande maioria das pesquisas é ainda alicerçada na abordagem original da teoria monoaminérgica da gênese dos distúrbios

psiquiátricos, fundamentada na observação dos efeitos da reserpina, dos inibidores da monoaminoxidase e antidepressivos tricíclicos. A manutenção desta abordagem não resultará em fármacos realmente inovadores e tão pouco auxiliará na evolução do conhecimento sobre as doenças mentais (Nestler e Carlezon, 2006). Este fato torna-se preocupante considerando que distúrbios do humor, como a depressão, têm prevalência mundial de aproximadamente 18%, sendo considerada uma das doenças mentais mais incapacitantes e dispendiosas (Gold e Charney, 2002).

É neste contexto que se insere a pesquisa do gênero *Hypericum*. A espécie *Hypericum perforatum*, conhecida popularmente nos EUA e Inglaterra como *St. John's wort* e na Alemanha como *Johanniskraut* (erva-de-São-João), apresenta-se como alternativa aos antidepressivos sintéticos no tratamento de depressões leves a moderadas. Estudos clínicos demonstram a eficácia de extratos padronizados de *H. perforatum* nestas situações (Linde *et al.*, 1996; Kasper *et al.*, 2006) e estudos sobre seu mecanismo de ação indicam que estes extratos atuam de modo diferente dos antidepressivos atuais (Chatterjee *et al.*, 1998; Kumar *et al.*, 2001). Uma característica interessante de sua atividade é a ação não-específica. O extrato e algumas substâncias isoladas inibem a recaptação sinaptossomal de serotonina, noradrenalina, dopamina, GABA e glutamato (Wonnemann *et al.*, 2000; Roz e Rehavi, 2003). A ligação de histamina, de neurocinina, de corticotropina e opióides aos seus respectivos receptores também é inibida por extratos de *H. perforatum* (Simmen *et al.*, 2001).

Dados epidemiológicos sobre a depressão

Os Transtornos Depressivos podem acometer pessoas de qualquer gênero, raça e nível sócio-econômico. A OMS estima que atualmente 121 milhões de pessoas sofrem de depressão. Aproximadamente 5,8% dos homens e 9,5% das mulheres sofrerão um episódio depressivo em algum momento da vida, estes valores podem variar entre as diferentes populações. A depressão crônica ou recorrente pode resultar em prejuízos de ordem pessoal e profissional. Ela é principal causa de afastamento do trabalho (medido em

YLD, do inglês, *Years Lived with Disability*) e quarta colocada quando se consideram os anos de potencial vida produtiva perdidos por morte prematura ou doença (DALY, do inglês *Disability Adjusted Life Years*), sendo que a OMS projeta que em 2020 a depressão alcançará o segundo lugar como causa de DALY. Além disso, o suicídio permanece uma possível decorrência do Transtorno Depressivo Maior. Os Transtornos Depressivos e a Esquizofrenia são responsáveis por 60% dos suicídios registrados no mundo.

Tratamentos para depressão

A primeira linha de tratamento inclui medicação antidepressiva, psicoterapia ou a combinação de ambos. Outras intervenções efetivas incluem a criação de uma rede de apoio para indivíduos, famílias ou grupos vulneráveis. As evidências sobre a prevenção de episódios depressivos são menos conclusivas. O tratamento com antidepressivos juntamente com psicoterapia é efetivo em 60 - 80% dos pacientes. Entretanto, menos de 25% dos indivíduos afetados (em alguns países menos de 10%) recebem tratamento, algumas razões são a falta de recursos, de pessoal treinado e o estigma associado às doenças mentais que leva os pacientes a não procurar auxílio.

Na década de 50 antidepressivos de duas classes foram descobertos, os tricíclicos e os inibidores de monoamino oxidase (IMAO). Apesar de atualmente existirem mais de 25 substâncias utilizadas para fabricação de medicamentos antidepressivos, desde a descoberta dos ADT e IMAO não ocorreu nenhuma grande inovação no mecanismo de ação destes medicamentos, todos ainda agem via transmissão monoaminérgica, apenas com maior especificidade que os tricíclicos e IMAO. A grande vantagem dos antidepressivos de segunda geração e atípicos são efeitos adversos mais brandos e por isso melhor tolerado pelos pacientes. A seguir apresentamos um resumo sobre as principais características das classes de medicamentos antidepressivos disponíveis:

30 Antidepressivos Tricíclicos (ADT)

No final da década de 40, Häflinger e Schindler sintetizaram uma série de mais de 40 derivados de iminodibenzila para possível uso como anti-histamínico, analgésico, anti-parkinson e/ou sedativo. Entre as substâncias selecionadas em testes pré-clínicos, por suas propriedades sedativas ou hipnóticas, estava a imipramina. Inesperadamente, ela apresentou uma melhora indiscutível em certos pacientes deprimidos (Baldessarini, 1996). Posteriormente, descobriu-se que todos os antidepressivos tricíclicos ativos clinicamente inibem a recaptação de serotonina e noradrenalina com diferentes potências (Nestler, 1998). Porém, devido a sua origem eles também atuam sobre os receptores de histamina e acetilcolina. Esta última interação causa importantes efeitos tipo atropina, incluindo boca seca e constipação, tontura, visão borrada, sedação, hipotensão ortostática. Outras reações adversas incluem alterações cardiovasculares, em sobre-dose os ADTs diminuem a condução intraventricular podendo causar falência cardíaca ou arritmias ventriculares. Em sobre-dose estes medicamentos também podem causar ataques epilépticos principalmente em pacientes que já apresentaram episódios anteriores. Alguns exemplos são: imipramina, amitriptilina, clorimipramina, desimipramina.

Inibidores de monoamino oxidases (IMAO)

Foram os primeiros antidepressivos clinicamente ativos e tiveram um grande impacto no desenvolvimento da moderna psiquiatria biológica (Baldessarini, 1996). Em 1951 a isoniazida e seu derivado isopropila, iproniazida, foram desenvolvidos para o tratamento de tuberculose. Observou-se que a iproniazida melhorava o humor em pacientes tuberculosos com sintomas de depressão. Em 1952, o grupo de Zeller descobriu que a iproniazida possuía atividade inibidora da enzima monoamino oxidase (Baldessarini, 1996). Esta classe de antidepressivos aumenta os níveis de catecolaminas por inibir a MAO, uma das enzimas que degradam as aminas cerebrais. Os primeiros medicamentos com atividade IMAO (fenelzina, tranilcicloprida) são inibidores irreversíveis da enzima, ou seja, sua atividade retorna apenas após a síntese de uma nova enzima. Por esta razão, a ingestão

de alimentos que contém tiramina, principalmente os produzidos por fermentação (p.ex. queijos, vinhos, cerveja) deve ser evitada, pois a MAO também oxida outras feniletilaminas. Esta interação é menos crítica para IMAOs seletivos para MAO A e reversíveis, como moclobemida. Outras reações adversas são: hipotensão, ganho de peso e disfunção sexual. Apesar disso, alguns pacientes com depressão respondem melhor a IMAOs que a qualquer outra classe de antidepressivos (Feighner, 1999).

Inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS)

Estes antidepressivos aumentam a biodisponibilidade de 5-HT na fenda sináptica, porque inibem o transportador de serotonina (Stahl, 1998). Esta ação causa o aumento repentino de serotonina predominantemente na área somatodendrítica A administração crônica de ISRS, o aumento persistente de serotonina na área somatodendrítica do neurônio leva a dessensibilização dos auto-receptores somatodendríticos tipo 5-HT_{1A}. Uma vez que estes auto-receptores fiquem dessensibilizados, o fluxo de impulso neural não é mais rapidamente inibido pela presença de 5-HT. Outro modo de dizer-se é que, a neurotransmissão serotoninérgica é desinibida, e mais serotonina é liberada do terminal axônico (Stahl, 1998). Sua eficácia, especialmente em depressão maior, não é superior aos ADT, mas o risco de overdose é menor. Além disso, a maioria dos pacientes parece tolerar as reações adversas, que muitas vezes são transitórias como náusea, tontura, diarreia, agitação ou sedação. O uso de ISRS pode ocasionar disfunções sexuais em homens e mulheres, incluindo redução da libido, anorgasmia, retardo ejaculatório, impotência (Papakostas e Fava, 2007). Ex: fluxetina, paroxetina, sertralina.

Antidepressivos atípicos

Inibidores seletivos da recaptação de serotonina e noradrenalina (IRSNs) - Os inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina são uma classe recente de antidepressivos, seu primeiro representante foi a velafaxina, mas já é um tratamento de primeira linha para depressão. Eles aumentam a atividade tanto de NA como de 5-HT, além de interagir fracamente com receptores dopaminérgicos e parecem agir como antagonista não-

competitivode receptores nicotínicos (Papakostas e Fava, 2007). Parece haver uma relação dose-resposta com este fármaco, e em altas doses, o efeito adrenérgico é aumentado (Feighner, 1999). A velafaxina causa uma *down-regulation* aguda nos receptores β -adrenérgicos, fato que sugere um possível mecanismo de início de ação agudo, porém não existem estudos. Dependendo da dose empregada, seus efeitos adrenérgicos podem causar aumento da pressão sanguínea, entretanto este efeito não é encontrado em todos os estudos. Nos EUA o órgão de controle FDA (do inglês *Food and Drug Administration*) orienta que é necessária a monitorização da pressão sanguínea (Feighner, 1999). Alguns dos efeitos adversos destes antidepressivos, assim como dos ISRS, devem-se a ativação não seletiva de múltiplos receptores 5-HT e NA (Yadid *et al.*, 2000). Outros representantes são, duloxetina e milnacipram (Papakostas e Fava, 2007).

Inibidores da recaptção de serotonina e bloqueador 5-HT₂ - A este grupo pertencem a trazodona e seu análogo, a nefazodona. Elas agem como inibidores relativamente fracos da serotonina e noradrenalina (Papakostas e Fava, 2007) e bloqueiam receptores pós-sinápticos 5-HT_{2A}/5-HT_{2C} (Feighner, 1999; Millan, 2006). Por bloquear 5-HT_{2A} e inibir a recaptção de serotonina, a nefazodona parece possuir um mecanismo dual de ação sobre o sistema serotoninérgico. A trazodona também é um forte bloqueador do receptor adrenérgico α_1 , acredita-se que este receptor seja responsável pelo efeito sedativo da trazodona e também pode estar relacionado com a ocorrência de priapismo, efeito menos pronunciado durante o uso de nefazodona (Papakostas e Fava, 2007). Outras reações adversas incluem dificuldade de concentração e letargia. Ela também não possui ação do tipo quinidina, sendo segura na sobre-dose, e tem uma pequena taxa epileptigênica e de disfunção sexual, especialmente quando comparado com ISRS, venlafaxina, ADT e IMAO. A nefazodona não possui atividade anti-histamínica nem anti-colinérgica, o que melhora sua tolerabilidade e segurança (Feighner, 1999).

Antidepressivos adrenérgico e serotoninérgico específicos (NaSSa) - O exemplo de antidepressivo que atua em receptores NA e 5-HT específicos é a

mirtazepina. Ela bloqueia os auto-receptores α_2 -adrenérgicos e α_2 -hetero-receptores serotoninérgicos responsáveis pela regulação na liberação de NA e 5-HT. Além disso, bloqueia os receptores pós-sinápticos 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} e 5-HT₃. Este bloqueio resulta num aumento da atividade noradrenérgica e atividade serotoninérgica específica, o que resulta em menores efeitos colaterais do tipo ISRS (distúrbios gastrointestinais, insônia e disfunção sexual) e dos ADT (boca seca, tontura e constipação). Entretanto, a mirtazepina tem ação histaminérgica, o que pode causar sedação e aumento de apetite com aumento de peso (Feighner, 1999).

10 *Inibidores da recaptção de noradrenalina (IRNs)*- A reboxetina é o mais específico inibidor da recaptção de NA, com fraca afinidade pelo transportador de serotonina e dopamina e receptor muscarínico. Apesar de ser classificada como tricíclico, a desipramina também pode ser incluída nesta classe, devido a sua grande especificidade pela transportados de NA. O aumento de
15 noradrenalina parece estar relacionado à ativação de receptores α_1 - e α_2 -adrenérgicos pós-sinápticos na região cortico-limbica. Alguns estudos sugerem que a reboxetina pode se efetiva no tratamento de alterações cognitivas e no funcionamento psicossocial durante a depressão. As reações adversas incluem cefaléia, insônia, boca seca, hesitação urinária e constipação. Não está
20 associada a reações adversas típicas dos ISRS, como disfunção sexual (Yadid *et al.*, 2000).

Inibidores da recaptção de noradrenalina e dopamina (IRND)- Seu principal representante é a bupropiona. Uma grande diferença em relação aos ISRS e IRN é a elevação dos níveis de DA no núcleo acumbens, apesar de
25 bloquear fracamente a recaptção de dopamina (Millan, 2006). A ativação de receptores D₁ que facilitam a liberação de NA podem contribuir para elevação de NA no cortex frontal (Feighner, 1999). Além disso, a bupropiona é rapidamente metabolizada a derivados que inibem a recaptção de NA. Não possui efeito sobre os receptores serotoninérgicos, muscarínicos, histamínicos
30 e α_2 -adrenérgicos. Porém, a bupropiona parece agir como um antagonista não-competitivo de receptores nicotínicos (Millan, 2006), este efeito pode estar

relacionado com seu uso no tratamento do tabagismo (Cordioli *et al.*, 2005). Uma vantagem em comparação aos ISRS é não estar associada com disfunções sexuais nem sedação. As reações adversas mais comuns da bupropiona são, agitação, insônia, perda de peso, boca seca, constipação, cefaléia e tremor. Um efeito adverso importante é a convulsão, principalmente em fórmulas de liberação imediata. Embora possa elevar a pressão sanguínea, este efeito não é muito comum (Papakostas e Fava, 2007).

Tianeptina - Apesar de ainda ser classificada por alguns autores como um potencializador da recaptção de serotonina (Papakostas e Fava, 2007), este efeito parece ser indireto uma vez que a afinidade da tianeptina pelo transportador de 5-HT é muito baixa e não afeta de maneira importante os níveis extracelulares de 5-HT (Millan, 2006). Ainda que o mecanismo de ação da tianeptina não esteja elucidado, vários achados experimentais justificam seu efeito antidepressivo. Cronicamente ela aumenta a sensibilidade de receptores α_1 -adrenérgicos, porém não modifica os níveis sinápticos de NA (Rogoz *et al.*, 2001). O sistema dopaminérgico também é alterado pelo tratamento crônico com tianeptina, foi verificado um aumento na funcionalidade dos receptores D₂ no núcleo acumbens e na liberação mesolímbica de dopamina. O modo pelo qual este antidepressivo aumenta a transmissão dopaminérgica não está claro, pois ela não se liga a transportadores de DA nem aos auto-receptores D₂ e D₃. Outras alterações induzidas pela tianeptina que podem estar relacionadas com seu efeito antidepressivo são: atenuar a influência inibitória de GABA (ácido gama-amino butírico) e glicina sobre a excitabilidade neuronal; ter efeito neuroprotetor contra os efeitos do estresse causados pelos glicocorticóides e citocinas neurotóxicas e modular a transmissão glutamatérgica (Millan, 2006).

Pacientes resistentes aos tratamentos

Um terço ou mais dos pacientes não responde e mais da metade não consegue obter ou manter uma remissão completa com qualquer tratamento farmacológico isolado. Ao avaliar a resistência de um paciente ao tratamento é preciso considerar os cinco Ds: diagnóstico, droga, dose, duração do tratamento e diferentes tratamentos. O médico deve considerar a mudança de

todos eles caso o paciente não responda num período de 6-8 semanas. Em casos extremos, como em depressões psicóticas, catatônicas, onde o paciente corre risco de vida, podem ser empregados métodos não farmacológicos como eletroconvulsoterapia, estimulação transcraniana, privação do sono (Potter e Hollister 2006).

O gênero *Hypericum*

A família *Guttiferae* (*Clusiaceae*) é constituída por 50 gêneros e aproximadamente 1000 espécies distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais do planeta (Cronquist, 1981). Entre alguns gêneros importantes da família destacam-se *Calophyllum*, *Garcinia*, *Vismia* e *Hypericum*. Um grande número de espécies desses gêneros tem sido utilizado na medicina tradicional para o tratamento de câncer, doenças de origem viral, bacteriana e fúngica, entre outras. A ampla utilização desses vegetais tem levado à descoberta de inúmeras moléculas com diversas atividades biológicas. Entre estas, destacam-se as substâncias fenólicas. Essas substâncias - em especial as *meta*-diidroxiladas - freqüentemente apresentam-se substituídas por grupamentos prenila, considerados como interessantes grupos farmacofóricos. A prenilação é facilitada pela influência dos grupos hidroxila, os quais aumentam a densidade eletrônica favorecendo energeticamente as reações enzimáticas de substituição eletrofílica com pirofosfato de dimetilialila (Zuurbier *et al.*, 1998). Posteriormente, numa seqüência biossintética, pode ocorrer ciclização da cadeia prenilada originando os derivados dimetil-benzopirânicos correspondentes.

Esse padrão de substituição - hidroxilação, prenilação e posterior ciclização do grupo prenila - é verificado nas diversas substâncias fenólicas encontradas em espécies de *Guttiferae* como calanolídeos, piranocumarinas com importante atividade anti-HIV-1 (Mckee *et al.*, 1998) e xantonas, as quais têm mostrado ação antiinflamatória, anti-hepatotóxica, antiviral, antimicrobiana, antioxidante, inibidora de monoaminoxidases (IMAO), antiprotozoária e antitumoral (Rocha *et al.*, 1994; Bennet e Lee, 1989). Outras substâncias importantes são benzofenonas, precursores de xantonas, que apresentam

atividade antiprotozoária e anti-HIV-1 (Bennet e Lee 1989; Fuller *et al.*, 1999); e derivados de floroglucinol, apresentando atividades antidepressiva, antimicrobiana, cicatrizante, antiproliferativa, entre outras (Rocha *et al.*, 1994; Ishiguro *et al.*, 1986; Jayasuriya *et al.*, 1991; Rocha *et al.*, 1996).

5 Em relação aos estudos farmacológicos, o gênero *Hypericum*, constituído por cerca de 400 espécies, tem recebido especial atenção devido à atividade antiviral de quinonas policíclicas - hipericina e pseudo-hipericina - sobre vários retrovirus, *in vitro* e *in vivo*, em particular sobre o HIV (Awang *et al.*, 1991) e pelo emprego terapêutico de *H. perforatum*, a espécie mais conhecida do gênero, como antidepressivo (Linde *et al.*, 1996; Gaster e
10 Holroyd, 2000).

Espécies de *Hypericum* nativas do Rio Grande do Sul

Os estudos fitoquímicos, realizados no laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia - UFRGS, mostraram a presença das seguintes
15 substâncias:

Derivados de floroglucinol: Até o momento, todos os derivados de floroglucinol identificados das espécies nativas apresentam estrutura dimérica consistindo de um ácido filicínico ligado a um floroglucinol. A partir do extrato ciclo-hexano das partes aéreas de *H. myrianthum*, foram isolados os
20 floroglucinóis já descritos: japonicina A (Dall' Agnol *et al.*, 2003), presente em *H. japonicum* (Ishiguro *et al.*, 1987) e *H. brasiliense* (Rocha *et al.*, 1995), e uliginosina B (Ferraz *et al.*, 2002a) também presente em *H. carinatum* e *H. polyanthemum* (Nör *et al.*, 2004). Hiperbrasilol B, previamente isolado de *H. brasiliense* (Rocha *et al.*, 1996), foi identificado em *H. carinatum* e
25 *H. caprifoliatum*. A partir de *H. caprifoliatum* foi também isolado um conjunto de tautômeros, cuja análise espectroscópica por ressonância magnética nuclear (RMN) demonstrou tratar-se de um derivado de floroelucinol ligado ao ácido filicínico (Viana, 2002). A separação e elucidação estrutural destes tautômeros estão ainda em andamento.

30 Benzopiranos: A partir do extrato clorofórmico das partes aéreas de *H. polyanthemum*, três benzopiranos de estrutura inédita foram isolados: HP1 (6-

isobutiril-5,7-dimetóxi-2,2-dimetil-benzopirano), HP2 (7-hidróxi-6-isobutiril-5-metóxi-2,2-dimetil-benzopirano) e HP3 (5-hidróxi-6-isobutiril-7-metóxi-2,2-dimetil-benzopirano) (Ferraz *et al.*, 2001). Posteriormente, estes benzopiranos também foram isolados de *H. ternum* (Ferraz *et al.*, 2005c). Utilizando a técnica de micropropagação *in vitro*, Bernardi e col. (2005a) conseguiram que as plântulas de *H. polyanthemum* produzissem benzopiranos. Estas plântulas foram aclimatizadas com sucesso e mostraram o mesmo perfil de benzopiranos encontrado na planta selvagem (Bernardi *et al.*, 2005).

Taninos e flavonóides: A avaliação de taninos demonstrou teores entre 5 a 16%; *H. myrianthum* (5,1%), *H. caprifoliatum* (6,4%), *H. polyanthemum* (6,7%), *H. carinatum* (9,1%), *H. connatum* (11,5%), *H. ternum* (16,7%) (Dall' Agnol *et al.*, 2003). A fração fenólica não-tanante destas espécies foi analisada quanto à presença de flavonóides glicosilados. Foram encontrados os compostos normalmente citados na literatura: hiperosídeo, quercitrina, isoquercitrina e guaijaverina (Dall' Agnol *et al.*, 2003).

Benzofenonas: A partir das partes aéreas de *H. carinatum*, foram isoladas duas benzofenonas inéditas, carifenona A e carifenona B (Bernardi *et al.*, 2005).

Óleos voláteis: As espécies de *Hypericum* não são caracteristicamente aromáticas, nas espécies *H. caprifoliatum*, *H. polyanthemum*, *H. myrianthum*, *H. carinatum*, *H. connatum* and *H. ternum* a quantidade de óleos voláteis varia de 0,1% a 0,5%. Nestas espécies, sesquiterpenos estão em maior concentração que monoterpenos e todas possuem alcanos, principalmente nonano e undecano (Ferraz *et al.*, 2005a).

Após investigação fitoquímica de oito espécies, *H. brasiliense*, *H. carinatum*, *H. caprifoliatum*, *H. connatum*, *H. cordatum*, *H. myrianthum*, *H. polyanthemum* e *H. piriari*, Ferraz *et al.* (2002b) verificaram a ausência de hipericina em todas as espécies. Este resultado está de acordo com a divisão quimiotaxonômica proposta por Robson (1990), onde a produção de hipericina é relacionada com a presença de glândulas negras nas folhas. As espécies

brasileiras, que pertencem às seções *Brathys* e *Trigynobrathys* possuem apenas glândulas pálidas, que não produzem hipericina.

As espécies *H. caprifoliatum*, *H. carinatum*, *H. connatum*, *H. myrianthum*, *H. piriai*, *H. polyanthemum* e *H. cordatum*, e três benzopiranos isolados de *H. polyanthemum* (HP1; HP2; e HP3) foram testados quanto à atividade inibidora de monoamino oxidase A e B em preparações de mitocôndrias de cérebro de ratos. Entre os extratos que apresentaram inibição significativa apenas para MAO_A, os com maior atividade na concentração de $1,5 \times 10^{-2}$ mg/mL foram o extrato clorofórmico de *H. caprifoliatum* (83%) e de *H. polyanthemum* (82%) e o extrato éter de petróleo de *H. piriai* (90%), entre os benzopiranos apenas HP3 (IC₅₀ MAO_A de 22,2 µM) apresentou atividade significativa (Gnerre *et al.* 2001). As observações *in vitro* não foram confirmadas *in vivo*, a única espécie que apresentou redução no tempo de imobilidade dos ratos foi *H. caprifoliatum*, mas não o extrato clorofórmico, e sim o éter de petróleo (Daudt *et al.*, 2000; Gnerre *et al.*, 2001).

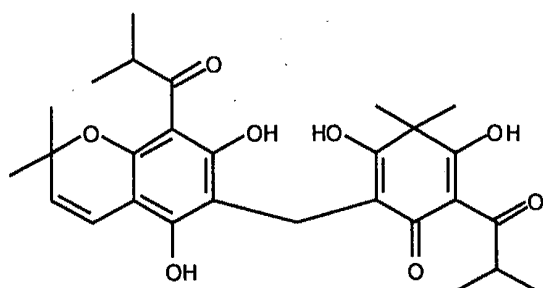
O possível mecanismo de ação da espécie *H. caprifoliatum* está sendo investigado e, até o momento, os dados indicam o envolvimento do sistema dopaminérgico. Verificou-se que o efeito antiimobilidade do extrato lipofílico (270 mg/kg/dia, v.o.) é prevenido pelo pré-tratamento com sulpirida (50 mg/kg, i.p.) (antagonista D2), que este extrato (90 mg/kg, v.o.) potencializa a hipotermia causada por apomorfina (16 mg/kg, s.c.) e os efeitos sobre a recaptação de monoaminas, a ligação aos transportadores, a ligação de [³⁵S] GTPγS estimulada pelos agonistas e sobre o eixo HPA são equivalentes aos apresentados para *H. polyanthemum*.

Outras atividades farmacológicas verificadas para espécies de *Hypericum* nativas do Rio Grande do Sul foram: antibacteriana para *H. brasiliense* (Rocha *et al.*, 1995; Rocha *et al.*, 1996), *H. caprifoliatum*, *H. myrianthum*, *H. polyanthemum* e *H. ternum* (Dall'Agnol *et al.*, 2003, 2005); *H. ternum* apresentou atividade antifúngica (Fenner *et al.*, 2005); atividade antiproliferativa foi verificada para *H. caprifoliatum*, *H. myrianthum*, *H. ternum* e benzopiranos isolados de *H. polyanthemum* (Ferraz *et al.*, 2005 b, c); *H.*

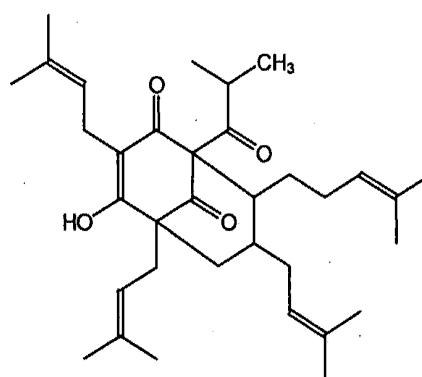
connatum apresentou atividade antiviral (Schmitt *et al.*, 2001); carifenona A isolada de *H. carinatum* demonstrou efeito antioxidante (Bernardi *et al.*, 2005); *H. caprifoliatum*, *H. polyanthemum* (Viana *et al.*, 2003) e *H. brasiliense* (Mendes *et al.*, 2002) apresentaram atividade antinociceptiva.

5 *Hypericum polyanthemum*

Esta é uma planta nunca antes estudada. A sua constituição química é diferente de *Hypericum perforatum*, que é a planta do gênero empregada pela indústria farmacêutica mundial. *H. perforatum* apresenta em sua constituição duas substâncias consideradas como principais e que são base para a padronização dos medicamentos: hipericina e hiperforina (B). A espécie por nós apresentada - *H. polyanthemum* - não apresenta hipericina e seus derivados floroglucinol (A) têm uma estrutura química bastante diferenciada da hiperforina.



(A)



(B)

Isto pode representar uma vantagem importante, pois a presença de hipericina e de hiperforina está relacionada à ocorrência de problemas limitantes da utilização de *H. perforatum*, como fotossensibilização e interações medicamentosas, respectivamente.

Os produtos obtidos com *H. polyanthemum*, especialmente HP4 (uliginosina B), parecem ter uma seletividade para inibição de recaptção da dopamina, do que os extratos de *H. perforatum*, pelo menos no que concerne às aminas biogênicas serotonina e noradrenalina. O efeito mais potente sobre a ativação do sistema dopaminérgico pode ser interessante para o

desenvolvimento de fármacos antidepressivos mais seletivos para determinados subtipos de depressão ou pacientes resistentes ao arsenal terapêutico disponível, bem como para o tratamento de doenças que apresentam a depressão como comorbidade (ou vice-versa), p.ex. doença de
5 Parkinson. Além disso, o tratamento repetido com o extrato afeta repostas relacionadas ao estresse, com um mecanismo de ação diferente dos fármacos antidepressivos atuais, o que também poderá ser significativo em relação à pacientes resistentes.

A vantagem principal é a possibilidade de aproveitamento de uma planta
10 nativa do Estado do RS para obtenção de moléculas estruturalmente distintas das já conhecidas, as quais poderão ser empregadas como fármacos, modelos para obtenção de fármacos ou como ferramentas para estudo do sistema monoaminérgico; ainda, esta espécie poderá ser utilizada pela indústria farmacêutica para o desenvolvimento de fitoterápicos com atividade
15 antidepressiva similar a de *Hypericum perforatum*, o qual constitui uma matéria prima importada e cara. A proteção do emprego de extratos lipofílicos de *H. polyanthemum* para obtenção de produtos com ação monoaminérgica pode propiciar um avanço para o desenvolvimento de fitoterápicos e fitofármacos de origem brasileira.

20 Os produtos similares existentes no mercado são: antidepressivos cujo mecanismo de ação envolve a inibição da recaptação neuronal de monaminas e medicamentos antidepressivos a base de extratos padronizados (em hipericina e em hiperforina) de *Hypericum perforatum*.

In vitro, a uliginosina B (obtida de *Hypericum polyanthemum*, objeto
25 desta invenção) e a hiperforina (obtida de *Hypericum perforatum*, tecnologia atualmente utilizada) inibem a recaptação sinaptosomal de serotonina, noradrenalina, e dopamina. Porém, o efeito da hiperforina sobre a recaptação de neurotransmissores parece ser mais inespecífico que o de uliginosina B, que apresenta CI_{50} para dopamina c.a. de três vezes menor que para NA e 5-
30 HT. Além das monoaminas, a hiperforina inibe ainda a recaptação

sinaptossomal de GABA e glutamato, fortalecendo a idéia de uma ação pouco seletiva.

A ocorrência deste padrão molecular é possivelmente exclusiva (marcador taxonômico) para espécies sul americanas. Além disso, em *H. polyanthemum* não foi detectada a presença de hipericina (ver item
5 antecedentes). Hiperforina e hipericina têm sido consideradas como responsáveis por dois eventos potencialmente limitantes do tratamento com *H. perforatum*: grande número de interações medicamentosas (via indução do citocromo P450) e fotossensibilização, respectivamente.

10 Em relação aos antidepressivos, todas as substâncias disponíveis no mercado inibem a recaptação de monoaminas pela ligação aos seus transportadores neuronais, enquanto uliginosina inibe a recaptação sem se ligar aos transportadores monoaminérgicos, fato que também foi observado para hiperforina e *ad*-hiperforina. Assim, florglucínóis diferem em modo de
15 ação dos antidepressivos existentes no mercado. Esta característica pode ser explicada pelo padrão molecular dos derivados de florglucínóis das espécies avaliadas e os requisitos estruturais para a ligação com os receptores e transportadores monoaminérgicos, os derivados de florglucinol não possuem átomos de nitrogênio considerados essenciais para essa ligação (Figura 4).

20 O eixo HPA pode ser um alvo importante para a ação de antidepressivos. A hiperatividade do eixo hipotálamo-pituiária-adrenal (HPA) em pacientes deprimidos pode ser corrigida através do tratamento com antidepressivos. Em animais, os antidepressivos reduzem os níveis corticais e séricos de corticosterona, enquanto os extrato ciclo-hexânico (POL) reduziu
25 apenas os níveis corticais, o que pode representar um mecanismo diferenciado e mais seletivo.

O modo particular de ação *H. polyanthemum* e uliginosina B os colocam na perspectiva de uma visão mais abrangente do mecanismo de ação destes fármacos. Há um consenso entre os grupos de pesquisa em depressão que
30 apenas o aumento de monoaminas na fenda sináptica causado pela inibição dos seus transportadores não explica toda gama de efeitos dos

antidepressivos. Além disso, muitos autores consideram que a manutenção da abordagem *me too* (substâncias molecularmente diferentes, mas com mesmo mecanismo de ação) não resultará em fármacos realmente inovadores e que possam melhorar algumas limitações do tratamento atual, como, a demora de
5 no mínimo duas semanas para o início do efeito terapêutico enquanto os efeitos adversos ocorrem desde a primeira dose, e os pacientes resistentes a diferentes fármacos antidepressivos.

Os estudos pré-clínicos realizados por nosso grupo com extratos e/ou moléculas obtidas de espécies de *H. polyanthemum* demonstram de forma
10 inequívoca a potencialidade de uso para o desenvolvimento de antidepressivos. Esta potencialidade é corroborada por outros resultados, já encontrados e publicados por nosso grupo, com a espécie *H. caprifoliatum*, espécie também nativa do RS, bem como pela atividade antidepressiva reconhecida de *H. perforatum*, espécie europeia. A presente invenção diz
15 respeito ao uso de extratos lipofílicos de *H. polyanthemum* para a produção de fitomedicamentos antidepressivos. A uliginosina B pode ser utilizada na produção de fármacos antidepressivos ou com atividade dopaminérgica. Esta substância também pode ser utilizada como molécula protótipo para síntese de
20 fármacos com atividade sobre o sistema monoaminérgico e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal.

A busca na literatura patentária apontou alguns documentos relevantes que serão descritos a seguir.

O documento US 6,346,282 revela uma composição farmacêutica direcionada ao tratamento de distúrbios do sistema nervoso tais como
25 distúrbios de ansiedade, irritabilidade ou depressão que compreende o uso sinérgico de extrato de *Hypericum* com um potenciador como acetil-L-carnitina. A presente invenção difere deste documento pela composição farmacêutica não compreender o uso de um potenciador.

O documento US 6,472,439 relata uma composição farmacêutica compreendendo um extrato vegetal e dois carregadores. Especificamente o
30 extrato vegetal é um extrato de *Hypericum spp*, um dos carregadores é

escolhido do grupo que compreende polietileno glicol, álcool polivinílico, polivinil pirolidona dentre outros compostos e o segundo carregador é um composto insolúvel em álcool. Especificamente, a parte não volátil desta composição farmacêutica é ligada numa forma microdispersa. A presente
5 invenção difere deste documento por não utilizar um extrato seco microdisperso, mas sim um extrato líquido ou dessecado a vácuo.

O documento US 2003/0012824 relata uma composição farmacêutica compreendendo um agente redutor de ansiedade, um agente anti-ácido, e um composto indutor de alerta mental. Especificamente, o agente redutor de
10 ansiedade é um extrato vegetal, dentre eles o extrato de *Hypericum perforatum*, o agente antiácido é escolhido do grupo que compreende carbonato de alumínio, hidróxido de alumínio dentre outros e o agente indutor de alerta mental é escolhido do grupo que compreende extratos vegetais que promovem o fluxo sanguíneo. A presente invenção difere deste documento
15 pela composição farmacêutica por não compreender a associação destes diversos compostos.

O documento US 2006/0167074 descreve uma composição farmacêutica destinada à prevenção, tratamento ou inibição de desordens psiquiátricas, em particular, da esquizofrenia e distúrbios depressivos.
20 Especificamente, a composição descrita neste documento compreende a associação de um agente neuroléptico ou antidepressivo com um agente inibidor da COX-2 ou um pró-fármaco dos mesmos. A presente invenção difere deste documento por não compreender uma composição farmacêutica que utiliza uma associação de extratos de *Hypericum* com inibidores da COX-2.

O documento US 2007/0231405 relata uma composição farmacêutica que compreende uma vitamina, um mineral e uma espécie vegetal. Especificamente, a erva utilizada é *Hypericum perforatum*. A presente invenção difere deste documento pela composição farmacêutica por não compreender a
25 associação destes diversos compostos.

O documento WO 1999/64388 relata uma composição farmacêutica para uso no tratamento de distúrbios antidepressivos. Especificamente, a
30

composição farmacêutica deste documento compreende o uso de derivados de hiperforinas. A presente invenção difere deste documento por compreender derivados diméricos do floroglucinol, e não da hiperforina.

5 O documento US 2007/0190187 relata uma composição farmacêutica destinada ao tratamento de desordens psiquiátricas que compreende o uso de vários extratos vegetais, dentre eles o extrato de *Hypericum polyanthemum*. A presente invenção difere deste documento pelo fato de descrever um extrato contendo uliginosina B.

10 Portanto, não foi encontrado na literatura nenhum documento que antecipe ou sequer sugira as particularidades da presente invenção.

Sumário da Invenção

15 É um objeto da presente invenção um extrato vegetal de *Hypericum polyanthemum* contendo compostos pertencentes à classe dos floroglucinóis e/ou benzopiranos.

Em uma realização preferencial o floroglucinol da presente invenção é a uliginosina B e/ou seus derivados.

20 A parte vegetal de *H. polyanthemum* é escolhida do grupo que compreende as folhas, o caule, a raiz, os frutos, as sementes, as flores bem como a mistura dos mesmos. Especificamente, a presente invenção utiliza as partes aéreas de *H. polyanthemum*.

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

- 25 a) pelo menos um extrato vegetal de *Hypericum polyanthemum* compreendendo compostos pertencentes à classe dos floroglucinóis; e
- b) um veículo farmacêuticamente aceitável.

Especificamente, a composição farmacêutica da presente invenção compreende um extrato vegetal contendo uliginosina B e/ou seus derivados e destina-se ao tratamento de distúrbios do sistema nervoso, especificamente, ao
30 tratamento da depressão.

É um adicional objeto da presente invenção um processo de produção de um extrato de *Hypericum polyanthemum* compreendendo compostos pertencentes à classe dos floroglucínóis compreendendo as etapas de maceração de pelo menos uma parte vegetal de *H. polyanthemum* em ciclohexano, onde a relação massa (g) planta:volume (mL) ciclo-hexano varia de 1:1 a 1:50.

Breve Descrição das Figuras

A Figura 1 mostra o efeito do extrato ciclo-hexano de *H. polyanthemum* (POL) nas doses de 180 e 270 mg/kg/ e imipramina (IMI) 20mg/kg, v.o. sobre o tempo de imobilidade de camundongos no teste de natação forçada e antagonismo do efeito de POL270 com SCH 23390 (SCH) 15 µg/kg e sulpirida (SUL) 50 mg/kg. Resultados expressos em média ± E.P. * Diferença significativa em relação ao grupo SAL (água + polissorbato 80, 5%, 1mL/kg, v.o.) # diferença significativa em relação a POL270 (ANOVA $F_{(7,79)} = 5,9$; $p < 0,001$).

A Figura 2 mostra o efeito de uliginosina B (HP4, 90 mg/kg, v.o.) e imipramina (IMI, 20 mg/kg, v.o.) sobre o tempo de imobilidade de camundongos no teste de natação forçada. Resultados expressos em média ± E.P. * Diferença significativa em relação ao grupo SAL (água + polissorbato 80, 5%, 1mL/kg, v.o.) (ANOVA, $F_{2,29} = 15,5$; $p < 0,001$).

A Figura 3 mostra o efeito de três dias de tratamento com imipramina (IMI 20 mg/kg), bupropiona (BUP 30 mg/kg), *H. polyanthemum* (POL 360 mg/kg) ou polissorbato 5% em água (SAL) nos níveis plasmáticos (A) e cortical (B) de corticosterona, em camundongos submetidos ou não ao nado forçado. Dados apresentados em média ± EP. * $p < 0,01$ comparado ao respectivo grupo sem nado; # $p < 0,01$ comparado a SAL com nado. Legenda: (A) Eixo X – corticosterona plasmática (µg/100 mL plasma); Valores em branco: sem nado; valores hachurados: com nado; (B) Eixo X – Corticosterona cortical (pg/100 mg tecido)

Descrição Detalhada da Invenção

Os exemplos descritos a seguir não tem a intenção de limitar o escopo da presente invenção, mas apenas de mostrar uma das formas de concretizá-la.

5 Material vegetal

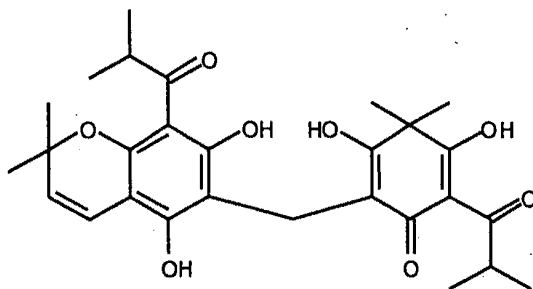
O material vegetal utilizado na presente invenção é qualquer material vegetal obtido de plantas do gênero *Hypericum*, em especial a *Hypericum polyanthemum*, tais como raiz, caule, folha, flor, fruto, semente, bem como a mistura dos mesmos.

10 Especificamente, a presente invenção utiliza as partes aéreas de *H.polyanthemum*.

Compostos pertencentes à classe dos floroglucínóis e/ou benzopiranos

Os compostos pertencentes à classe dos floroglucínóis incluem, mas não se limitam a, hiperbrasilol-A, hiperbrasilol-B, isohiperbrasilol-B, 15 hiperbrasilol-C, isouliginosina B, japonicina, uliginosina A e uliginosina B, assim como seus sais, solvatos e/ou hidratos. Os compostos pertencentes a classe dos benzopiranos incluem, mas não se limitam a benzopiranos HP1, HP2, HP3 assim como seus sais, solvatos e/ou hidratos.

20 O composto preferido da presente invenção é a uliginosina B, que possui a fórmula estrutural abaixo.



Processo de Extração

25 O processo de extração da presente invenção é realizado por qualquer processo de extração já descrito no estado da técnica como o uso de aparelho

Soxhlet, maceração, dentre outros. O solvente utilizado é um solvente lipofílico como, por exemplo, ciclo-hexano.

Especificamente, a presente invenção utiliza extração com Soxhlet e extração manual com funil de separação.

5 Em especial as folhas de *H. polyanthemum* são maceradas por 24h 3 vezes, e depois filtradas.

Processo de Purificação

A purificação dos compostos presentes em cada extrato é realizada por qualquer método de purificação já utilizado no estado da técnica tais como a 10 cromatografia em camada delgada e a cromatografia em coluna dentre outros possíveis.

Especificamente, o processo de purificação utilizado na presente invenção é a cromatografia em coluna e a cromatografia em camada delgada.

Composição farmacêutica

15 Para efeitos desta invenção, por "composições farmacêuticas" entende-se toda e qualquer composição que contenha um princípio ativo, com fins profiláticos, paliativos e/ou curativos, atuando de forma a manter e/ou restaurar a homeostase, podendo ser administrada de forma tópica, parenteral, enteral e/ou intratecal.

20 A expressão "farmaceuticamente aceitável" é empregada aqui para se referir a compostos, materiais, composições, e/ou forma de dosagem que são, dentro do âmbito da medicina, apropriados para uso em contato com os tecidos de humanos e animais sem toxicidade excessiva, irritação, resposta alérgica, ou outro problema ou complicação, proporcional com uma relação razoável de 25 benefício/risco.

A composição da presente invenção pode ser administrada em forma de dosagem oral, como tabletes, cápsulas (cada qual inclui a liberação sustentada ou formulações com tempo de liberação) pílulas, pós, granulados, elixires, tinturas, suspensões, xaropes, e emulsões. Eles podem ser administrados 30 sozinhos, mas geralmente serão administrados com um veículo farmacêutico

selecionado na base de rota de administração escolhida e da prática farmacêutica padrão.

A composição farmacêutica da presente invenção compreende:

- a) pelo menos um extrato vegetal de *Hypericum polyanthemum* compreendendo compostos pertencentes à classe dos floroglucínóis; e
- b) um veículo farmacêuticamente aceitável.

Especificamente, a composição farmacêutica da presente invenção compreende um extrato vegetal contendo uliginosina B e/ou seus derivados e destina-se ao tratamento de distúrbios do sistema nervoso, especificamente, ao tratamento da depressão.

Exemplo 1. Obtenção do extrato vegetal

Exemplo 1.1. Material vegetal e Estudo Químico

As partes aéreas de *H. polyanthemum* foram coletadas em Caçapava do Sul / RS. As exsiccatas do material vegetal foram preparadas para identificação e registradas no herbário ICN (Herbário do Departamento de Botânica - Instituto de Biociências - UFRGS) sob o número Bordignon *et al.*1429 (*H. polyanthemum*). O material, imediatamente após a coleta, foi selecionado, seco em ambiente arejado, ao abrigo da luz direta, e rasurado manualmente.

Exemplo 1.2. Obtenção do extrato ciclo-hexano (POL)

As partes aéreas, dessecadas a temperatura ambiente e a sombra e rasuradas foram submetidas a uma operação de maceração (3x24h), com ciclo-hexano na proporção de 1 g de material vegetal por 10 mL de solvente. Após cada extração, a mistura foi filtrada e a torta vegetal foi submetida à mesma operação duas vezes.

Exemplo 2. Isolamento e identificação dos constituintes químicos

Os principais componentes de POL foram obtidos através de cromatografia em coluna usando gradientes de hexano/ acetato de etila, seguido de cromatografia em camada delgada preparativa em sílica gel GF254 empregando-se como eluente clorofórmio/hexano (3,5 : 1 V/V). Um dos componentes majoritários foi analisado por ressonância magnética ^1H , ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) e caracterizado como uliginosina B (HP4), um derivado de

floroglucinol ligado ao ácido filicínico. Os principais componentes de POL e CLOR (extrato clorofórmico) foram obtidos através cromatografia em camada delgada preparativa em sílica gel GF254 empregando-se como eluente clorofórmio e analisados por ressonância magnética ^1H , ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz).
5 Foram identificados três benzopiranos: HP1 (6-isobutiril-5,7-dimetóxi-2,2-dimetil-benzopirano), HP2 (7-hidróxi-6-isobutiril-5-metóxi-2,2-dimetil-benzopirano) e HP3 (5-hidróxi-6-isobutiril-7-metóxi-2,2-dimetil-benzopirano).

Exemplo 3. Estudo Farmacológico- Atividade antidepressiva

10 POL e seu derivado floroglucinol uliginosina B (HP4) demonstraram atividade em um modelo animal de depressão - Teste da Natação forçada de Porsolt (FST) - em ratos Wistar e camundongos CF1. POL foi ativo em ratos (270 mg/kg/dia, v.o.) e camundongos (180, 270 e 360 mg/kg, v.o.). A ação de POL no FST foi bloqueada pela administração de SCH 23390 (antagonista dopaminérgico D_1) 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.p., e sulpirida (antagonista dopaminérgico D_2) 50 mg/kg, i.p. (Figura 1). HP4 foi ativo na dose de 90 mg/kg, v.o., em camundongos (Figura 2).

Exemplo 3.1. Efeito sobre os transportadores de monoaminas

Foi avaliado o efeito de HP4 (3×10^{-4} – 3×10^{-11} g/mL) sobre a recaptação sinaptossomal de dopamina ($[^3\text{H}]\text{-DA}$), noradrenalina ($[^3\text{H}]\text{-NA}$) e serotonina ($[^3\text{H}]\text{-5HT}$) em sinaptossomos preparados a partir de estriado, hipotálamo e córtex frontal, respectivamente. HP4 inibiu a recaptação sinaptossomal DA de modo mais potente (CI_{50} 90 ± 38 nM) do que para 5-HT (CI_{50} 252 ± 13 nM) e NA (CI_{50} 280 ± 48). Estes resultados sugerem que o potencial efeito antidepressivo de *H. polyanthemum* esteja relacionado ao sistema dopaminérgico. Entretanto, este efeito não parece ser dependente de uma ação direta das substâncias sobre o transportador de monoaminas, uma vez que diferentes concentrações de HP4 (3×10^{-7} – 3×10^{-11} g/mL) não afetaram a ligação de $[^3\text{H}]\text{-mazindol}$, $[^3\text{H}]\text{-nisoxetina}$ e $[^3\text{H}]\text{-citalopram}$ aos sítios de recaptação de DA, NA e 5-HT, respectivamente, em membranas preparadas com as mesmas estruturas citadas acima. Este perfil difere dos demais

antidepressivos, que inibem a recaptação de monoaminas através de competição pelo sítio de ligação no transportador.

Exemplo 3.2. Efeito de POL e HP4 sobre ativação de proteínas G

Para avaliação do efeito de POL sobre os receptores de DA, NA, 5-HT e opióides, foi utilizada a técnica de ligação de [³⁵S] GTPγS estimulada por DA, NA, 5-HT e DAMGO em membranas preparadas a partir estriado, hipotálamo, córtex frontal e tálamo de ratos, respectivamente. O tratamento agudo de ratos com POL (90 mg/kg e 270 mg/kg, v.o.) aumentou significativamente a ligação de [³⁵S] GTPγS estimulada por DA, NA e 5-HT, enquanto 5 dias de tratamento com 90 mg/kg, diminui esta ligação. Nenhum dos regimes de tratamento afetou a ligação estimulada por DAMGO, um agonista opióide, o que demonstra uma seletividade de efeito para os receptores monoaminérgicos. Este perfil temporal de ação coincide com as modernas teorias de que o efeito antidepressivo está relacionado a processos neuroadaptativos.

A incubação direta de membranas sinaptossomais com HP4 não altera a ligação de [³⁵S] GTPγS ao seu sítio. Estes resultados demonstram que os tratamentos com POL resultam em alterações na transmissão monoaminérgica; porém estas não se devem a efeitos diretos de HP4 sobre os receptores. Estas alterações podem ocorrer através de outros mecanismos reguladores ou estarem relacionadas a metabólitos de HP4, produzidos após administração in vivo de POL. A tabela 1 apresenta os valores relativos à potência (EC₅₀) e ao efeito máximo (E_{max}) da ligação de [³⁵S] GTPγS estimulada pelos agonistas após os diferentes regimes de tratamento com POL e salina.

Tabela 1: Efeito de diferentes regimes de tratamento com POL sobre a potência (EC₅₀) e o efeito máximo (E_{max}) da ligação de [³⁵S] GTPγS estimulada por agonistas.

		EC ₅₀ (μM)			
		DA	NA	5-HT	DAMGO
Salina	T1	25 ± 6.2	42.5 ± 3.6	156 ± 25	0.24 ± 0.04
	T2	18.1 ± 2.4	39.4 ± 6.5	135 ± 26	0.37 ± 0.07
	T3	5 ± 1	10.4 ± 2.6	63.2 ± 25.9	1.6 ± 0.3
POL	T1	7.6 ± 0.8 **	7.2 ± 1.3 **	13.4 ± 2.6 **	0.35 ± 0.08

	T2	0.32 ± 0.05 *** c	0.28 ± 0.11 *** b	0.13 ± 0.03 *** c	1.46 ± 0.47
	T3	307 ± 92 ***	189 ± 40 **	534 ± 225 ***	2.1 ± 0.6
	E_{max}				
		DA	NA	5-HT	DAMGO
Salina	T1	60.6 ± 2.2	48.9 ± 3.9	45.3 ± 3.3	79.7 ± 4.5
	T2	59.3 ± 3.9	47.9 ± 5.9	33.8 ± 2.7	71.6 ± 5.2
	T3	83.6 ± 3.7 ^c	68 ± 2.3	60.3 ± 8.3	70.6 ± 5
POL	T1	73.2 ± 2.6* c	66.9 ± 1.5	57.1 ± 1.1 a	77.4 ± 1.3
	T2	93.2 ± 3.6 *** c	113.5 ± 17.1 *** c	93.1 ± 10.9 *** c	66.6 ± 3.9
	T3	44.8 ± 5.9 ***	40.2 ± 1.1*	36.1 ± 4.5*	64.1 ± 1.8

T1 – tratamento agudo (90 mg/kg, v.o.)

T2 – três tratamentos durante 24h (270 mg/kg, v.o.)

T3 – cinco dias de tratamento com 90 mg/kg, v.o.

média ± SEM de 4 experimentos em duplicata. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, comparações no mesmo regime de tratamento, diferença significativa em relação a SAL. ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, comparações dentro do mesmo grupo de tratamento, diferença significativa em relação aos outros regimes de tratamento.

Exemplo 3.3. Efeito sobre os níveis séricos e corticais de corticosterona

10 Foi avaliada a ação de POL (360 mg/kg, v.o.) sobre os níveis sérico e cortical de corticosterona de camundongos submetidos ou não ao estresse causado pelo nado forçado. A concentração de corticosterona presente nas amostras foi medida por radioimuno ensaio. Os resultados mostraram que três dias de tratamento com POL diminui significativamente o aumento do nível

15 cortical de corticosterona induzido pelo nado forçado, sem afetar o nível sérico (Figura 3), enquanto o tratamento com os antidepressivos imipramina e bupropiona altera tanto os níveis séricos, quanto corticais. Estes resultados evidenciam que o tratamento repetido com o extrato afeta respostas relacionadas ao estresse, com um mecanismo de ação diferente dos fármacos

20 atuais.

Reivindicações

EXTRATO VEGETAL NEUROATIVO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA COMPREENDENDO O MESMO E PROCESSO PARA SUA PRODUÇÃO

- 5 1. Extrato vegetal neuroativo caracterizado por ser obtido de plantas pertencentes a espécie *Hypericum polyanthemum* e possuir pelo menos um composto pertencente à classe dos floroglucínóis e/ou benzopiranos.
2. Extrato vegetal, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser obtido de partes vegetais selecionadas do grupo que compreende raiz, caule,
10 folha, flor, fruto, semente e combinações dos mesmos.
3. Extrato vegetal, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelos compostos pertencentes à classe dos floroglucínóis serem escolhidos do grupo que compreende iso-uliginosina B, uliginosina A, uliginosina B, seus sais solvatos e/ou hidratos e mistura dos mesmos.
- 15 4. Extrato vegetal, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo composto ser a uliginosina B.
5. Extrato, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelos benzopiranos serem escolhidos do grupo que compreende os benzopiranos HP1, HP2, HP3 e mistura dos mesmos.
- 20 6. Extrato vegetal, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por compreender o uso das partes aéreas de *H. polyanthemum*.
7. Processo de produção de extrato vegetal caracterizado por compreender as etapas de:
 - a. extração de pelo menos um fluoroglucínol e/ou benzopirano de uma
25 planta pertencente a espécie *Hypericum polyanthemum* em solventes orgânicos; e
 - b. purificação do extrato obtido.
8. Processo, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pela relação massa de planta (g):volume de solvente (mL) utilizada variar de 1:1 a 1:50.
- 30 9. Processo, de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pela relação ser 1:10.

10. Processo, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado por ser obtido de partes vegetais selecionadas do grupo que compreende raiz, caule, folha, flor, fruto, semente e combinações dos mesmos.
11. Processo, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelos compostos pertencentes à classe dos floroglucínóis serem escolhidos do grupo que compreende iso-uliginosina B, uliginosina A, uliginosina B, seus sais solvatos e/ou hidratos e mistura dos mesmos.
12. Processo, de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo composto ser a uliginosina B.
- 10 13. Processo, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelos benzopiranos serem escolhidos do grupo que compreende os benzopiranos HP1, HP2, HP3 e mistura dos mesmos.
14. Processo, de acordo com as reivindicações 7 ou 10, caracterizado por compreender o uso das partes aéreas de *H. polyanthemum*.
- 15 15. Processo, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo solvente orgânico ser o ciclo-hexano.
16. Processo, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pela etapa de purificação compreender a submissão do extrato obtido em a) a uma cromatografia.
- 20 17. Processo, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pela cromatografia ser cromatografia em camada delgada e/ou em coluna.
18. Composição farmacêutica caracterizada por compreender:
- a. um extrato de *Hypericum polyanthemum* com pelo menos um composto pertencente à classe dos floroglucínóis e/ou benzopiranos;
- 25 e
- b. um veículo farmacêuticamente aceitável.
19. Composição, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado por ser obtido de partes vegetais selecionadas do grupo que compreende raiz, caule, folha, flor, fruto, semente e combinações dos mesmos.
- 30 20. Composição, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelos compostos pertencentes à classe dos floroglucínóis serem escolhidos do grupo

que compreende iso-uliginosina B, uliginosina A, uliginosina B, seus sais solvatos e/ou hidratos e mistura dos mesmos.

21. Composição, de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo composto ser a uliginosina B.

5 22. Composição, de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelos benzopiranos serem escolhidos do grupo que compreende os benzopiranos HP1, HP2, HP3 e mistura dos mesmos.

23. Composição, de acordo com as reivindicações 18 a 20, caracterizado por compreender o uso das partes aéreas de *H. polyanthemum*.

10 24. Uso de um extrato de *Hypericum polyanthemum* possuindo pelo menos um composto pertencente à classe dos floriglucínóis caracterizado por ser para a fabricação de um medicamento usado no tratamento de distúrbios do humor e/ou depressão.

Figura 1

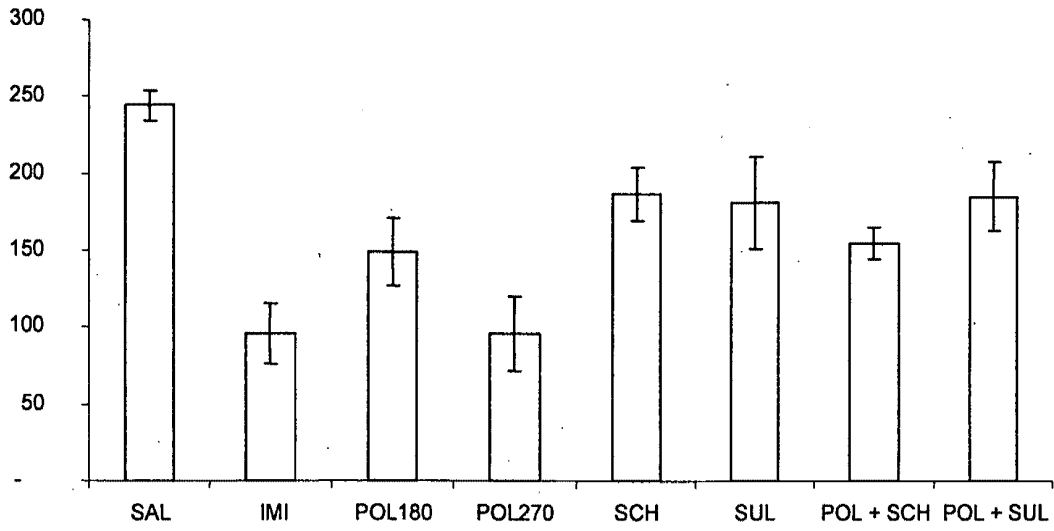


Figura 2

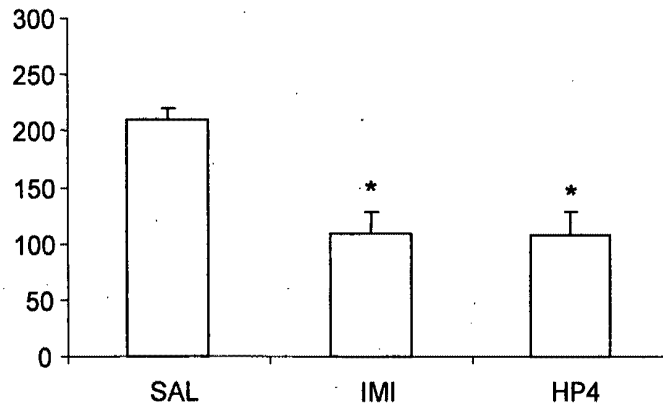
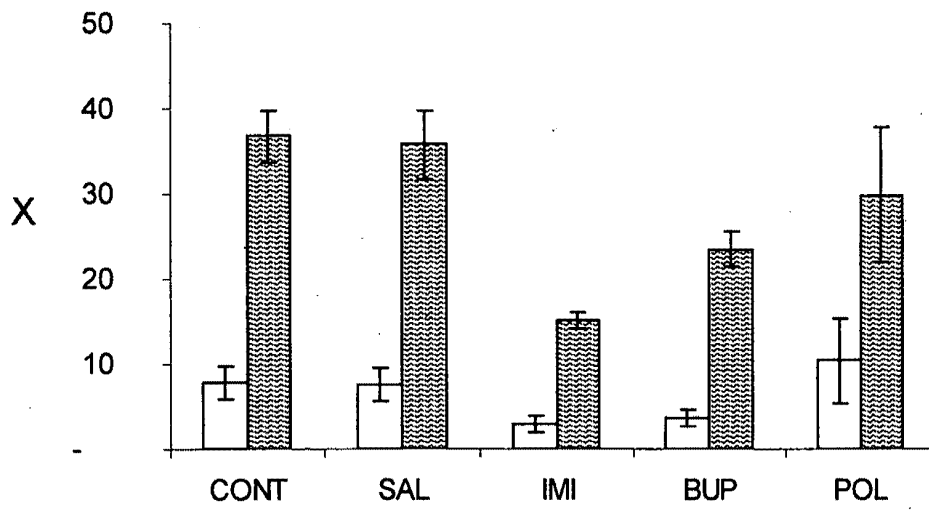
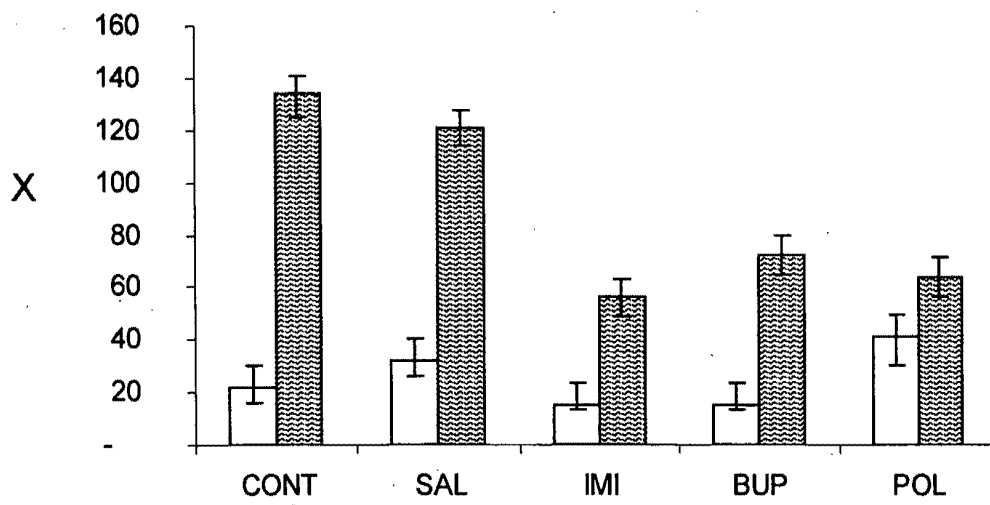


Figura 3

A



B



Resumo**EXTRATO VEGETAL NEUROATIVO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA
COMPREENDENDO O MESMO E PROCESSO PARA SUA PRODUÇÃO**

A presente invenção pertence ao campo dos extratos vegetais com atividade sobre o sistema nervoso central. Especificamente o extrato vegetal da presente invenção é um extrato obtido de *Hypericum polyanthemum* e compreende o composto uliginosina B e compostos da classe dos benzopiranos. A presente invenção compreende ainda uma composição farmacêutica compreendendo tal extrato que apresenta ação farmacológica em doenças psiquiátricas, como de distúrbios do humor, especificamente, atividade anti-depressiva.