

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

(21) **PI0806793-7 A2**

(22) Data de Depósito: 11/02/2008
(43) Data da Publicação: 13/09/2011
(RPI 2123)



(51) *Int.Cl.*:
A61K 31/702
A61K 35/23
A61P 25/24

(54) **Título:** COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO SELETIVA DA ABSORÇÃO DE SEROTONINA E PROCESSO DA MESMA

(30) **Prioridade Unionista:** 12/02/2007 IN 00255/MUM/2007

(73) **Titular(es):** Indus Biotech Private Limited

(72) **Inventor(es):** Bhaskaran Sunil, Vishwaraman Mohan

(74) **Procurador(es):** Guerra ADV.

(86) **Pedido Internacional:** PCT IN2008000132 de 11/02/2008

(87) **Publicação Internacional:** WO 2008/099426de
21/08/2008

(57) **Resumo:** COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO SELETIVA DA ABSORÇÃO DE SEROTONINA E PROCESSO DA MESMA. A presente invenção diz respeito a uma nova composição farmacêutica sinérgica para inibição da absorção de serotonina, em que tal composição inclui glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside opcionalmente junto com excipientes. A presente invenção também diz respeito a excipientes; um processo de preparação da nova composição farmacêutica sinérgica para inibição da reabsorção de serotonina, onde o processo inclui as etapas de: (a) obtenção do extrato da planta Centella asiática; (b) tratamento do extrato com solventes para remover substâncias graxas, clorofila e outros corantes; (c) purificação do extrato através de HPLC para obter o solvente eluído; e (d) concentração do solvente eluído para chegar à composição. A invenção também diz respeito à composição e ao uso de uma composição incluindo glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside opcionalmente junto com excipientes para fabricar um medicamento para inibição da reabsorção de serotonina em um sujeito que necessita do mesmo.



COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO SELETIVA DA ABSORÇÃO DE SEROTONINA E PROCESSO DA MESMA

Campo da Invenção

Esta invenção relaciona-se a uma nova composição farmacêutica para inibição da reabsorção da serotonina, a composição incluindo glicosídeos terpenóides pentacíclicos, junto com excipientes. Esta invenção diz respeito a um método de preparação de uma nova composição farmacêutica para inibição da reabsorção da serotonina a partir de fontes naturais. Esta invenção diz respeito ao uso de uma nova composição farmacêutica para inibição seletiva da reabsorção de serotonina.

Esta invenção também diz respeito à aplicação desta composição botânica no manejo da depressão, como um componente sensorial para elevação do humor e outras aplicações onde há envolvimento de uma ação mediada pela serotonina.

Dados Preliminares da Invenção

A serotonina é um neurotransmissor e desempenha um papel significativo em muitas funções fisiológicas. A serotonina está envolvida na sensação de saciedade vinculada à ingestão de alimentos. Essa função da serotonina pode ser aproveitada no tratamento de transtornos alimentares e no manejo relacionado da obesidade. A serotonina também está envolvida na elevação do humor e produz uma sensação de bem-estar. Essa propriedade fisiológica pode ser utilizada em aplicações onde isso pode ser oferecido como um ingrediente sensório para elevar o humor e a sensação de bem-estar. A aplicação mais significativa da serotonina é no tratamento do transtorno fisiológico depressão. Esse neurotransmissor oferece uma vantagem substancial para o manejo de uma doença como a depressão. Além disso, a serotonina também desempenha um papel no esvaziamento gástrico.

Conforme o NIMH (Instituto Nacional de Saúde Mental) dos EUA, cerca de 18,8

milhões de americanos adultos, o que constitui 9,5% da população, sofrem com a doença depressão. O custo econômico desse transtorno é muito alto. Contudo, o custo do sofrimento humano não pode ser estimado. O transtorno depressivo é uma enfermidade que afeta o corpo, o humor e os pensamentos. Há diferentes tipos de depressão como depressão profunda, distímia, a qual é um tipo menos grave de depressão, e transtorno bipolar, que se caracteriza por ciclos de humor, caracterizados por vários altos (mania) e baixos (depressão).

Os sintomas comuns de depressão são tristeza persistente, ansiedade ou humores vazios, sentimentos de falta de esperança, sentimentos de culpa, falta de valor, energia reduzida, dificuldade de se concentrar, insônia, alimentação excessiva, ganho de peso, pensamentos de morte, inquietude e irritabilidade. A principal causa de depressão é a redução das monoaminas funcionais cerebrais na transmissão sináptica amina-dependente. Isso envolve monoaminas cerebrais como a norepinefrina (NE), serotonina (5 HT) e dopamina.

Os métodos atuais de tratamento são:

Antidepressivos Tricíclicos

Essas drogas aumentam a quantidade do neurotransmissor no receptor evitando sua absorção nas extremidades nervosas. Isso deixa uma quantidade maior de amina fora das células nervosas, as quais são então capazes de interagir com os receptores. As drogas tricíclicas afetam principalmente as células que secretam norepinefrina.

Muitos tricíclicos podem bloquear os receptores da acetilcolina produzindo boca seca, visão borrada e constipação. Alguns tricíclicos podem ter efeitos sedativos, sonolência e aumentar o risco de baixa pressão arterial.

Inibidores Seletivos da Reabsorção de Serotonina (SSRIs)

Esse grupo de drogas afeta as células que liberam 5-hidroxitriptamina, também chamada de serotonina. Essas drogas compensam uma quantidade mais baixa do que o normal de serotonina em algumas áreas do cérebro, o que as torna mais eficazes no tratamento da depressão. Os efeitos colaterais provocados por essas drogas incluem cefaléia, insônia, diarreia, perda de peso e uma redução na função sexual.

Inibidores da monoamina oxidase

O segundo grupo de terapia medicamentosa são os inibidores da monoamina oxidase. A monoamina oxidase é uma enzima que degrada os neurotransmissores.

O uso dessas drogas inibidoras de enzimas leva a uma menor destruição das aminas nas extremidades nervosas, deixando assim maior disponibilidade para armazenamento e liberação pelas células nervosas. Os efeitos colaterais provocados por essas drogas incluem redução na pressão arterial, boca seca, visão borrada e constipação. Essas drogas causam reações muito sérias com queijo e cerveja, o que conduz a um aumento significativo da pressão arterial e pode provocar sangramento no cérebro.

É visível que a depressão está ganhando importância e os métodos atuais de tratamento para o manejo dessa enfermidade estão longe de ser satisfatórios. Esse transtorno é crônico por natureza e exige uma terapia de manejo de longa duração.

Portanto é imperativo desenvolver métodos de tratamento mais amistosos e suaves a partir de fontes botânicas para o manejo de longa duração desse distúrbio. A presente invenção visa atingir a esse objetivo.

Objeto da Invenção

O objeto da presente invenção é uma composição farmacêutica para inibição da reabsorção da serotonina incluindo glicosídeos terpenóides pentacíclicos,

preferivelmente asiaticoside e madecassoside opcionalmente junto com excipientes.

Ainda outro objeto da presente invenção é desenvolver um processo de preparação de uma nova composição farmacêutica para inibição da reabsorção da serotonina.

Ainda outro objeto da presente invenção é obter uma nova composição farmacêutica para inibição da reabsorção da serotonina útil no manejo da depressão e transtornos mediados pela serotonina.

Ainda outro objeto da presente invenção é utilizar a composição para fabricar um medicamento para inibição da reabsorção da serotonina em um sujeito necessitando do mesmo.

Ainda outro objeto da presente invenção é utilizar a composição no manejo de transtornos mediados pela serotonina, depressão, obesidade, esvaziamento gástrico, elevação do humor e outros transtornos envolvendo a serotonina em um sujeito necessitando do mesmo.

Declaração da Invenção

Consequentemente, a presente invenção relaciona-se a uma composição para inibição da reabsorção da serotonina, tal composição incluindo glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside opcionalmente junto com excipientes aceitáveis; um processo para preparação de uma composição incluindo glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside, onde tal processo inclui as etapas de: obtenção do extrato da planta *Centella asiática*, filtração e concentração do extrato, dissolução do extrato concentrado em um solvente para obter uma solução, tratamento da solução com os solventes para remover substâncias graxas, clorofila e outros corantes, passar a solução tratada através de adsorventes para obter uma solução clara e concentração da solução clara para obter a composição, a fabricação de um

medicamento incluindo a composição junto com excipientes e uso da composição no manejo de transtornos mediados por serotonina em um sujeito necessitado do mesmo, e a etapa de administração de uma quantidade farmacologicamente aceitável da composição no sujeito.

5 **Descrição resumida das figuras**

A Fig. 1 representa o estômago do animal tratado com uma dose da droga de teste de 30 mg/kg.

A Fig. 2 representa o estômago do animal tratado com uma dose da droga de teste de 60 mg/kg.

10 A Fig. 3 representa o estômago do animal tratado com uma dose da droga de teste de 120 mg/kg.

Descrição detalhada da invenção

A presente invenção diz respeito a uma composição para a inibição da reabsorção da serotonina, tal composição incluindo glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside opcionalmente junto com excipientes
15 aceitáveis.

Em outra incorporação da presente invenção, os glicosídeos terpenóides pentacíclicos são obtidos de fontes vegetais ou animais, preferivelmente da planta *Centella asiática*.

20 Em ainda outra incorporação da presente invenção, a concentração de asiaticoside varia de 15-50% e a concentração de madecassoside varia de 20-50%.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, os excipientes são selecionados a partir de um grupo consistindo em agentes de granulação, agentes de ligação, agentes lubrificantes, agentes desintegradores, adoçantes, fluidificantes, anti-
25 aderentes, agentes anti-estáticos, agentes tensoativos, anti-oxidantes, gomas,

agentes de revestimento, corantes, aromatizantes, plastificantes, conservantes, agentes de suspensão, agentes emulsificantes e agentes de esferonização.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, tal composição é formulada em várias formas de dosagem a partir de um grupo consistindo em tabletes, pastilhas, comprimidos, suspensões aquosas ou oleosas, pomadas, patches, gel, loção, dentífrico, cápsulas, emulsões, cremes, sprays, gotas, pós ou grânulos dispersáveis, emulsão em cápsulas de gel duras ou macias, xaropes, elixires, fitocêuticos, nutracêuticos e alimentos.

A presente invenção também diz respeito a um processo de preparação de uma composição incluindo glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside, onde tal processo inclui as etapas de:

- a. obtenção do extrato a partir da planta *Centella asiática*;
- b. filtração e concentração do extrato;
- c. dissolução do extrato concentrado em um solvente para obter uma solução;
- d. tratamento da solução com os solventes para remover substâncias graxas, clorofila e outros corantes;
- e. passagem da solução tratada através de adsorventes para obter uma solução clara; e
- f. concentração da solução clara para obter a composição.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, o solvente é selecionado a partir de um grupo consistindo em compostos aromáticos heterocíclicos, compostos alifáticos, cetonas, álcoois, nitrilas, ésteres, éter e misturas de um ou mais destes.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, o solvente utilizado para a extração é preferivelmente um álcool alifático.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, a extração é efetuada sob uma

temperatura variando de 20 a 38°C, preferivelmente 30°C.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, a extração é efetuada por 6h a 10h, preferivelmente 8h.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, a concentração é efetuada sob
5 uma temperatura variando de 40 a 50°C, preferivelmente 45°C.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, o solvente é preferivelmente água deionizada.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, o solvente é selecionado a partir de um grupo incluindo hexano, éter de petróleo e metilisobutilcetona.

10 Em ainda outra incorporação da presente invenção, o adsorvente é selecionado a partir de um grupo consistindo em resina, carvão vegetal, sílica gel e uma mistura dos mesmos.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, a concentração é realizada a uma temperatura variando de 50 a 65°C.

15 A presente invenção também diz respeito ao uso de uma composição incluindo glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside opcionalmente junto com excipientes, para fabricar um medicamento para o manejo de transtornos mediados por serotonina em um sujeito necessitando do mesmo.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, o sujeito é um animal ou ser
20 humano.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, a composição é administrada em uma dosagem variando de 15-150 mg/kg de peso corporal em animais e 1-15 mg/kg de peso corporal em seres humanos.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, os transtornos mediados por
25 serotonina são depressão, obesidade, esvaziamento gástrico, elevação do humor e

outros transtornos envolvendo a serotonina.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, a composição é não tóxica e livre de efeitos adversos.

Uma incorporação da invenção diz respeito a uma nova composição farmacêutica para a inibição da reabsorção da serotonina, onde a composição inclui glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside, opcionalmente com excipientes. Em um aspecto da presente incorporação a concentração dos glicosídeos terpenóides pentacíclicos geralmente varia no asiaticoside de 15 a 50% e no madecassoside de 20-50%.

Em outro aspecto da presente incorporação, a nova composição é útil no manejo da depressão e funções mediadas pela serotonina.

Ainda outra incorporação da presente invenção é o uso de uma composição incluindo glicosídeos terpenóides pentacíclicos opcionalmente com excipientes para o manejo da depressão e funções mediadas pela serotonina em um sujeito necessitando do mesmo. Em um aspecto da presente incorporação o sujeito é um animal incluindo os seres humanos.

A depressão é uma doença que exige medicação sustentada para seu manejo. Os atuais métodos de tratamento disponíveis demoram cerca de 2-4 semanas antes de ter qualquer efeito. Devido a essa exigência de tratamento sustentado, os sujeitos experimentam uma gama de efeitos colaterais que variam em gravidade e duração.

A presente invenção diz respeito a uma composição, um processo e o uso de uma composição para o manejo da depressão e outras funções mediadas pela serotonina. A presente invenção está envolvida no manejo da depressão e outras funções mediadas pela serotonina enquanto que produz efeitos colaterais mínimos.

Como visto no teste descrito acima, a droga de teste mostrou menos agitação e

diarréia em comparação com uma droga padrão inibidora da reabsorção da serotonina. A presente invenção também não produz sedação no sujeito.

A presente invenção também diz respeito ao uso de uma composição incluindo glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside

5 opcionalmente junto com excipientes para fabricar um medicamento para a inibição da reabsorção da serotonina em um sujeito necessitando do mesmo. Em ainda outra incorporação da presente invenção, a inibição da reabsorção da serotonina é útil no manejo da depressão e das funções mediadas pela serotonina. Em ainda outra incorporação da presente invenção, os sujeitos são animais, incluindo seres

10 humanos.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, a composição ou é um pó ou um líquido e tem efeitos colaterais mínimos, onde a composição encontra-se em uma faixa de dosagem de 15-150 mg/kg nos animais e 1-15 mg/kg nos seres humanos.

Em ainda outra incorporação da presente invenção, toda a porção terrestre da planta

15 *Centella asiática*, incluindo o caule e as folhas, é lavada em água corrente para remover toda a sujeira aderente e contaminantes e secada na sombra. O material

seco é pulverizado em um moinho de martelos com um tamanho de partícula resultante do material capaz de passar através de uma malha de tamanho 16. O

material pulverizado é condensado em um percolador vertical com filtros nas

20 extremidades, tanto em cima quanto no fundo. O solvente utilizado pode ser um

álcool, incluindo mas não se limitando ao álcool metílico, álcool etílico, álcool propílico e álcool isopropílico como solvente isolado ou em uma combinação

específica, preferivelmente álcool etílico sozinho ou em combinação com álcool isopropílico em contra-corrente a temperaturas variando entre 20°C e 38°C,

25 preferivelmente a 30°C, por um período de tempo variando entre 8 h e 24 h,

preferivelmente 8 h.

O extrato resultante é filtrado, limpando-se quaisquer partículas visíveis através de um filtro de 80 mesh, e concentrado a baixa temperatura utilizando uma instalação de concentração a vácuo entre 40°C e 50°C, preferivelmente a 45°C, até tornar-se

5 uma pasta. A pasta resultante é dissolvida em água deionizada para obter uma solução uniforme. Essa solução é extraída com solvente de éter de petróleo ou hexano para remover todas as substâncias graxas. O extrato desengordurado é novamente extraído com metilisobutilcetona para remover a clorofila e outros corantes com um volume múltiplas vezes (preferivelmente 4 vezes) maior do que o
10 do extrato aquoso. O extrato aquoso claro é então passado através de um leito de resina de grau adsorvente e suas cores e contaminantes são removidos por lavagem do leito com 5 a 15 volumes, ou mais preferivelmente 8 volumes, de água deionizada. O leito lavado com água é eluído com um solvente alcoólico com átomo de carbono variando entre C-1 e C-4, preferivelmente etanol ou álcool isopropílico ou
15 uma mistura dos álcoois mencionados.

O solvente eluído foi novamente limpo em um leito incluindo uma camada de carvão vegetal ativado e sílica gel com granulometria entre 60 e 120 mesh. O solvente eluído foi colhido e o leito repetidamente lavado para retirar todos os glicosídeos terpenóides pentacíclicos do mesmo. O eluato do solvente foi concentrado sob
20 vácuo a baixa temperatura, preferivelmente entre 50°C e 65°C, até chegar a um pó e o pó resultante é suspenso em uma quantidade igual de água desmineralizada e seco por atomização para obter um pó altamente hidrossolúvel com uma composição de glicosídeos terpenóides pentacíclicos, principalmente asiaticoside, variando entre 15 e 50%, e madecassoside, variando entre 20 e 50%, na
25 composição, através de HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência).

Um resumo das informações acima descreve o processo de extração da seguinte maneira:

1. A planta *Centella asiatica* é lavada com água corrente para remover toda a sujeira aderente e contaminantes e secada na sombra.

5 2. O material seco é pulverizado em um moinho de martelos com um tamanho de partícula resultante do material que passa através de um tamanho de 16 mesh.

3. O material pulverizado é condensado em um percolador vertical e extraído com álcool alifático a uma temperatura variando entre 20 e 38°C preferivelmente por 8 h em contra-corrente.

10 4. O extrato resultante é filtrado, removendo quaisquer partículas visíveis através de um filtro de 80 mesh, e concentrado a baixa temperatura utilizando uma instalação de concentração a vácuo ao redor de 40°C a 50°C, preferivelmente a 45°C, até chegar a uma pasta.

15 5. A pasta resultante é dissolvida em água deionizada para obter uma solução uniforme.

6. Essa solução é extraída com solvente de éter de petróleo ou hexano para remover todas as substâncias graxas.

20 7. O líquido acima é novamente extraído com metilisobutilcetona para remover clorofila e outros corantes com tempos múltiplos, com um volume preferivelmente 4 vezes maior do que o do extrato aquoso.

8. O extrato aquoso claro é então passado através de um leito de resina de grau adsorvente.

9. O leito é lavado, removendo todas as cores e contaminantes do leito com 5 volumes, ou mais preferivelmente 8 volumes, de água deionizada.

25 10. O leito lavado com água foi eluído com um solvente de álcool com átomo de

carbono variando de C-1 a C-4, preferivelmente etanol e álcool isopropílico ou uma mistura de tais álcoois.

11. O solvente eluído foi novamente purificado em um leito incluindo uma camada de carvão vegetal ativado e sílica gel com granulometria de 60-120 mesh.

5 12. O solvente eluído foi colhido e o leito repetidamente lavado para remover todos os glicosídeos terpenóides pentacíclicos do leito.

13. O eluato do solvente foi concentrado sob vácuo a baixa temperatura preferivelmente entre 50°C e 65°C até chegar a um pó.

14. O pó resultante é suspenso em uma quantidade igual de água desmineralizada e
10 seco por atomização para obter um pó altamente hidrossolúvel com uma composição de glicosídeos terpenóides pentacíclicos, principalmente asiaticoside, variando entre 15 e 50%, e madecassoside, variando entre 20 e 50%, na composição através de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) como a seguir:

15 Método HPLC:

Coluna: fase reversa de 250 mm x 4,6 mm, granulometria de C-18 5 μ		
Comprimento de onda do detector: 220 nm		
Caudal: 1,4 ml/min		
Padrão utilizado: Chromadex		
Tempo	Acetonitrilo	Água
Inicial	75%	25%
30 min	45%	55%
40 min	75%	25%

O resultante composto de teste purificado é submetido aos seguintes ensaios para averiguar sua atividade como antidepressivo e estabelecer seu modo de ação.

No Teste de Suspensão da Cauda, o composto de teste mostrou uma atividade antidepressiva significativa que foi mensurada como uma redução percentual na
20 imobilidade dos camundongos suspensos. Em uma dosagem oral de 30 mg/kg na ração, o composto de teste mostrou uma redução de 40,3% na imobilidade. Isso

mostra uma habilidade promissora desse composto como antidepressivo.

Uma outra comprovação da atividade antidepressiva da droga foi observada durante a redução da imobilidade no Teste do Nado Forçado. A droga de teste resultou em uma redução de 68,76% na imobilidade sob a dose oral de 30 mg/kg em
5 comparação com a redução de 71,44% com a droga padrão antidepressiva tricíclica dosada a 100 mg/kg.

No Teste de Atividade Locomotora o composto de teste não mostrou efeitos sedativos sobre os camundongos. Isso é evidenciado pelo aumento na atividade locomotora dos camundongos. A atividade antidepressiva dessa droga não é
10 acompanhada por sedação e sonolência.

O composto de teste demonstrou sua capacidade de inibir a reabsorção da serotonina durante o teste de potencialização do 5-hidroxitriptofano (5-HTP), no qual ele aumentou significativamente o número de convulsões na cabeça dos camundongos. O composto de teste sob uma dose de 100 mg/kg foi comparável a
15 um inibidor da reabsorção de serotonina padrão, a saber, a Fluoxetina a uma dose de 100 mg/kg. Além disso, a droga de teste também mostrou efeitos colaterais minimizados em comparação com uma droga padrão inibidora da reabsorção da serotonina.

Assim, o composto de teste não possui o efeito colateral usual da atividade inibidora
20 da MAO (monoamina oxidase). Portanto, é desprovido de efeito colateral anticolinérgico. Ele apresenta uma atividade antidepressiva dose-dependente significativa no teste de suspensão da cauda em camundongos.

A invenção é elaborada mais adiante com a ajuda dos exemplos a seguir. Contudo, esses exemplos não devem ser interpretados como limitativos do escopo da
25 invenção.

Exemplo 1

1 kg da parte aérea consistindo principalmente nas folhas e nos caules da planta *Centella asiatica* é retirado em forma limpa e seca e pulverizado até um tamanho que garanta uma passagem de 100% através de um moinho de martelos para
5 tamanhos de 20 mesh. Esse material foi extraído com 5 litros de álcool isopropílico em um extrator em contra-corrente de leito fixo repetidamente por um período de 8h a 30°C. Após 8h, o extrato foi filtrado, limpando todas as matérias suspensas. O filtrado limpo foi concentrado até um estado semi-sólido sob 40°C em um evaporador giratório sob vácuo. Foram adicionados à massa concentrada 3 litros de
10 água deionizada para obter um líquido homogêneo. O líquido foi extraído através de duas lavagens com 2 litros de hexano e a camada aquosa do fundo foi separada. A camada aquosa foi extraída novamente duas vezes com 1 litro de metilisobutilcetona. A camada aquosa do fundo foi separada e passada através de um leito de resina adsorvente Amberlite XAD1180 (400 ml), mantendo-se um caudal
15 de 25 ml por minuto, e a descarga foi monitorada quanto à ausência de glicosídeos terpenóides.

A coluna foi lavada minuciosamente com 5 litros de água desmineralizada até que as lavagens estivessem incolores. A coluna de adsorventes foi eluída com álcool etílico até que o teste TLC de monitoramento mostrasse ausência de glicosídeos
20 terpenóides. O eluato resultante foi passado através de uma coluna consistindo em 100 gramas de carvão mineral ativado e 250 gramas de sílica gel de tamanho entre 60 e 120 mesh. O eluato resultante foi colhido e a coluna lavada minuciosamente com álcool etílico e todas as lavagens foram combinadas com o eluato e concentradas em uma instalação de destilação a vácuo entre 45 e 50 para obter o
25 pó. Esse pó foi dissolvido em 300 ml de água desmineralizada para obter uma

solução límpida de conteúdo sólido de 20% e secado por atomização em um secador por atomização com ar quente indireto paralelo sob as seguintes condições:

Temperatura de entrada: 140°C

Temperatura de saída: 80°C

- 5 A produção de 30 gm de pó hidrossolúvel amarelo pálido com uma composição de 40% de asiaticoside e 36% de madecassoside foi obtida através do método de HPLC.

Exemplo 2

- 1 kg da parte aérea consistindo principalmente nas folhas e caules da planta
- 10 *Centella asiática* foi retirado de forma limpa e seca e pulverizado até um tamanho que assegurasse 100% de passagem através de um moinho de martelos de tamanhos de 20 mesh. Esse material foi extraído com 5 litros de álcool etílico em um extrator em contra-corrente de leito fixo repetidamente por um período de 8h a 30°C. Após 8 h, o extrato foi filtrado, limpando todas as matérias suspensas. O filtrado
- 15 límpido foi concentrado até um estado semi-sólido a 40°C em um evaporador giratório sob vácuo. 3 litros de água deionizada foram adicionados à massa concentrada para obter um líquido homogêneo. O líquido foi extraído por lavagem duas vezes com 2 litros de hexano e a camada aquosa do fundo foi separada. A camada aquosa foi novamente extraída duas vezes com 1 litro de
- 20 metilisobutilcetona. A camada aquosa do fundo foi separada e passada através de um leito de resina adsorvente Amberlite XAD1180 (400 ml) mantendo um caudal de 25 ml por minuto e a descarga foi monitorada quanto à ausência de saponinas de centella.

- A coluna foi lavada minuciosamente com 5 litros de água desmineralizada até que
- 25 as lavagens estivessem incolores. A coluna de adsorventes foi eluída com álcool

etílico até que o teste TLC de monitoramento mostrasse ausência de saponinas de centella. O eluato resultante foi passado através de uma coluna consistindo em 100 gramas de carvão vegetal ativado e 250 gramas de sílica gel de tamanho entre 60 e 120 mesh. O eluato resultante foi colhido e a coluna lavada minuciosamente com álcool isopropílico e todas as lavagens foram combinadas com eluato e concentradas em uma instalação de destilação a vácuo entre 45°C e 50°C para obter o pó. Esse pó foi dissolvido em 300 ml de água desmineralizada para obter uma solução límpida com 10% de conteúdo sólido e seco por atomização em um secador por atomização com ar quente indireto paralelo sob as seguintes condições:

10 Temperatura de entrada: 140°C

Temperatura de saída: 80°C

A produção de 28 gm de pó hidrossolúvel amarelo pálido com uma composição de 40% de asiaticoside e 34% de madecassoside foi obtida através do método de HPLC.

15 **Exemplo 3**

1 kg da parte aérea consistindo principalmente nas folhas e caules da planta *Centella asiática* foi retirado de forma limpa e seca e pulverizado até um tamanho que assegurasse 100% de passagem através de um moinho de martelos de tamanhos de 20 mesh. Esse material foi extraído com 5 litros de álcool etílico em um extrator em contra-corrente de leito fixo repetidamente por um período de 8h a 30°C. Após 8 h, o extrato foi filtrado, limpando todas as matérias suspensas. O filtrado límpido foi concentrado até um estado semi-sólido a 40°C em um evaporador giratório sob vácuo. 3 litros de água deionizada foram adicionados à massa concentrada para obter um líquido homogêneo. O líquido foi extraído por lavagem duas vezes com 2 litros de hexano e a camada aquosa do fundo foi separada. A

camada aquosa foi novamente extraída duas vezes com 1 litro de metilisobutilcetona. A camada aquosa do fundo foi separada e passada através de um leito de resina adsorvente Amberlite XAD1180 (400 ml) mantendo um caudal de 25 ml por minuto e a descarga foi monitorada quanto à ausência de saponinas de centella.

A coluna foi lavada minuciosamente com mais de 5 litros de água desmineralizada até que as lavagens estivessem incolores. A coluna de adsorventes foi eluída com álcool isopropílico até que o teste TLC de monitoramento mostrasse ausência de saponinas de centella no eluato. O eluato resultante foi passado através de uma coluna consistindo em 100 gramas de carvão vegetal ativado e 250 gramas de sílica gel de tamanho entre 60 e 120 mesh. O eluato resultante foi colhido e a coluna lavada minuciosamente com álcool isopropílico e todas as lavagens foram combinadas com eluato e concentradas em uma instalação de destilação a vácuo entre 45°C e 50°C para obter o pó. Esse pó foi dissolvido em 300 ml de água desmineralizada para obter uma solução límpida com 20% de conteúdo sólido e seco por atomização em um secador por atomização com ar quente indireto paralelo sob as seguintes condições:

Temperatura de entrada: 140°C

Temperatura de saída: 80°C

A produção de 32 gm de pó hidrossolúvel amarelo pálido com uma composição de 39% de asiaticoside e 34% de madecassoside foi obtida através do método de HPLC.

Exemplo 4

1 kg da parte aérea consistindo principalmente nas folhas e caules da planta

Centella asiática foi retirado de forma limpa e seca e pulverizado até um tamanho

que assegurasse 100% de passagem através de um moinho de martelos de tamanhos de 20 mesh. Esse material foi extraído com 5 litros de álcool etílico em um extrator em contra-corrente de leite fixo repetidamente por um período de 10h a 30°C. Após 10 h, o extrato foi filtrado, limpando todas as matérias suspensas. O filtrado límpido foi concentrado até um estado semi-sólido a 40°C em um evaporador giratório sob vácuo. 3 litros de água deionizada foram adicionados à massa concentrada para obter um líquido homogêneo. O líquido foi extraído por lavagem duas vezes com 2 litros de hexano e a camada aquosa do fundo foi separada. A camada aquosa foi novamente extraída duas vezes com 1 litro de metilisobutilcetona. A camada aquosa do fundo foi separada e passada através de um leite de resina adsorvente Amberlite XAD1180 (400 ml) mantendo um caudal de 25 ml por minuto e a descarga foi monitorada quanto à ausência de saponinas de centella.

A coluna foi lavada minuciosamente com 5 litros de água desmineralizada até que as lavagens estivessem incolores. A coluna de adsorventes foi eluída com álcool etílico até que o teste TLC de monitoramento mostrasse ausência de saponinas de centella no eluato. O eluato resultante foi passado através de uma coluna consistindo em 100 gramas de carvão vegetal ativado e 250 gramas de sílica gel de tamanho entre 60 e 120 mesh. Os eluatos resultantes foram colhidos e a coluna foi lavada minuciosamente com álcool etílico e todas as lavagens foram combinadas com eluato e concentradas em uma instalação de destilação a vácuo entre 45°C e 50°C para obter o pó. Esse pó foi dissolvido em 300 ml de água desmineralizada para obter uma solução límpida com 20% de conteúdo sólido e seco por atomização em um secador por atomização com ar quente indireto paralelo sob as seguintes condições:

Temperatura de entrada: 140°C

Temperatura de saída: 80°C

A produção de 30 gm de pó hidrossolúvel amarelo pálido com uma composição de 41% de asiaticoside e 36% de madecassoside foi obtida através do método de HPLC.

Exemplo 5: Efeito do composto de teste sobre a suspensão da cauda em camundongos

Esse teste é utilizado para avaliar potenciais antidepressivos determinando a redução percentual da imobilidade em roedores. Levanta-se a hipótese de que a imobilidade exibida por roedores em cativeiro quando sujeitos a um estresse inevitável reflete um desespero comportamental, o qual pode refletir o estado mental de um ser humano sofrendo de transtorno depressivo. Os antidepressivos clinicamente eficazes reduzem a imobilidade que os camundongos exibem após tentativas ativas e mal sucedidas de escapar quando suspensos pela cauda.

Procedimento:

Camundongos albinos suíços de um sexo ou do outro pesando 25-30 g seriam alojados em gaiolas plásticas por no mínimo 10 dias antes do teste. Permitir-se-ia que os animais adaptassem-se ao ambiente de teste por 1 hora antes do teste. Grupos de 6 animais seriam tratados por via oral com a droga de teste, o veículo e a droga padrão 60 minutos antes do teste. Para o teste, os camundongos seriam suspensos na beira de uma estante a 58 cm acima do topo da mesa por fita adesiva colocada aproximadamente a 1 cm da ponta da cauda. A duração da imobilidade seria registrada por um período de 6 min continuamente. Os camundongos são considerados imóveis quando ficam suspensos passivamente e completamente imóveis por no mínimo 1 min. Imipramina 64 mg/kg por via oral seria utilizada como

padrão.

A percentagem de animais exibindo o comportamento passivo é contada e comparada com os controlos tratados com o veículo com utilização de várias doses.

Efeito da Droga de Teste sobre o Tempo de Imobilidade

Tratamento	Tempo total de imobilidade (segundos)	% de redução da imobilidade
Veículo	188,91 ± 7,412	-
Droga de teste (3mg/kg)	163,27 ± 12,240	13,57
Droga de teste (10 mg/kg)	132,10 ± 8,201**	30,08
Droga de teste (30 mg/kg)	112,69 ± 10,620**	40,34
Imipramina (64 mg/kg)	90,90 ± 7,690 **	51,88

5 Os dados representam a média ± EPM (n=8)

**P<0,01 vs. veículo, dados analisados por ANOVA seguida por teste de Dunnett.

O resultado obtido nesse teste mostrou uma redução dose-dependente da imobilidade pela droga de teste em doses de 3, 10 e 30 mg/kg, via oral. Na dose de 10 e 30 mg/kg, a redução da imobilidade foi significativa (P<0,01). A redução percentual da imobilidade foi calculada em contraponto ao grupo com veículo. A droga padrão, imipramina (64 mg/kg, via oral), mostrou uma redução significativa (P<0,01) na imobilidade.

Exemplo 6: Efeito do composto de teste sobre a atividade locomotora nos camundongos

15 Esse teste é conduzido para excluir o aspecto sedativo dos antidepressivos. Além disso, ele também pode eliminar certos efeitos de relaxamento muscular da droga. Camundongos albinos suíços são testados em uma câmara de locomoção com sensores a laser para verificar seus movimentos. O escore de locomoção é uma

função direta da mobilidade do animal. A redução da mobilidade pode dever-se ao efeito sedativo e efeito de relaxamento muscular.

Procedimento:

Camundongos albinos suíços de um sexo ou do outro pesando 25-30 g são alojados em gaiolas plásticas por no mínimo 10 dias antes do teste. Permite-se que os animais adaptem-se ao ambiente de teste por 1 hora antes da prova. Grupos de 6 animais são tratados com a droga de teste (10, 30 e 100 mg/kg, via oral) ou com o veículo ou droga padrão oralmente 60 min antes do teste. Para o teste, os camundongos são colocados individualmente em uma gaiola de atividade (*actophotometer*). A atividade locomotora é aferida por 10 minutos individualmente. Imipramina 64 mg/kg, via oral, é utilizada como padrão.

Efeito da Droga de Teste sobre o tempo de imobilidade

Tratamento	Total de contagens da atividade locomotora	% de aumento da atividade locomotora
Veículo	207,50 ± 21,88	-
Droga de teste (3 mg/kg)	220,75 ± 11,25	6,39
Droga de teste (10 mg/kg)	233,13 ± 15,80	12,35
Droga de teste (30 mg/kg)	289,38 ± 15,51**	39,46
Imipramina (64 mg/kg)	127,00 ± 06,90**	-38,80

Os dados representam média ± EPM (n=8)

**P<0,01 vs. veículo, dados analisados por ANOVA seguida por teste de Dunnett.

A imipramina é um controle positivo e provoca a redução da atividade locomotora. Isso é uma indicação do efeito sedativo da droga. Já a droga de teste mostra um aumento dose-dependente na atividade locomotora, confirmando assim que não há um efeito de sedação. É pertinente notar que a imipramina induz à sedação. Portanto o composto de teste não tem um efeito colateral de sedação como visto com a droga antidepressiva tricíclica.

A droga de teste a 30 mg/kg, via oral, mostrou um aumento significativo (P<0,01) na

atividade locomotora. Na dose de 3 e 10 mg/kg o aumento da atividade locomotora, contudo, não foi significativo. O percentual de aumento da atividade locomotora foi calculado tendo como referência o grupo com veículo. A droga padrão, imipramina (64 mg/kg, via oral), mostrou um aumento significativo ($P < 0,01$) na atividade locomotora, mas menor do que com o veículo e a droga de teste.

Exemplo 7: Teste de nado forçado

Os camundongos forçados a nadar em um espaço restrito do qual não podem fugir são induzidos a um comportamento característico de imobilidade.

Procedimento:

- 10 Camundongos albinos suíços do sexo masculino pesando 25-30 g são trazidos para o laboratório ao menos um dia antes do experimento e são alojados separadamente em gaiolas. Os camundongos são individualmente forçados a nadar dentro de um cilindro de plexiglass vertical (25 x 23 cm) contendo 12 cm de água mantida a 25°C. Os camundongos, postos nos cilindros pela primeira vez, são inicialmente bastante
15 ativos, nadando vigorosamente em círculos, tentando escalar a parede ou mergulhando até o fundo.

- Após 2-3 min a atividade começa a declinar e a ser entremeada por fases de imobilidade ou flutuação de duração crescente. Após 5-6 min, a imobilidade atinge um platô onde os camundongos permanecem imóveis durante aproximadamente
20 80% do tempo. Após 15 min na água os camundongos são removidos e permite-se que sequem em um local fechado aquecido (32°C) antes de serem devolvidos às suas gaiolas de origem. Eles são novamente colocados no cilindro 24 h mais tarde e a duração total da imobilidade é contada durante os últimos 4 min da sessão de teste de 6 min. Um animal é considerado imóvel sempre que permanecer flutuando
25 passivamente na água em uma posição vertical ligeiramente encurvada, com o

focinho um pouco acima da superfície. A droga de teste (10, 30 e 100 mg/kg, via oral) ou o veículo ou droga padrão, imipramina (100 mg/kg via oral), é administrada uma hora antes da prova.

Efeito da droga de teste sobre o tempo de imobilidade

Tratamento	Tempo de imobilidade total (segundos)	% de redução da imobilidade
Veículo	158,17 ± 8,991	-
Droga de teste (3 mg/kg)	142,50 ± 3,847	9,90
Droga de teste (10 mg/kg)	86,32 ± 15,920 **	45,42
Droga de teste (30 mg/kg)	49,43 ± 3,584**	68,75
Imipramina (100 mg/kg)	45,17 ± 4,450**	71,44

5 Os dados representam média ± EPM (n=8)

**P<0,01 vs. veículo, dados analisados por ANOVA seguida por teste de Dunnett.

O resultado obtido nesse teste mostrou que a droga de teste produziu uma redução dose-dependente na imobilidade nas doses de 3, 10 e 30 mg/kg, via oral. Nas doses de 10 e 30 mg/kg, a redução da imobilidade foi significativa (P<0,01). O percentual de redução da imobilidade foi calculado tendo como referência o grupo com veículo. As leituras de cada animal são mostradas no apêndice II, pág. 113. A redução da imobilidade mostrada pela dose de 30 mg/kg [Nota do tradutor: frase incompleta no original].

Antagonismo da reserpina

15 O esgotamento das aminas biogênicas no cérebro induz não só a catalepsia, mas também a hipotermia nos roedores. A redução da temperatura corporal induzida pela reserpina é antagonizada por antidepressivos, inibidores da MAO e estimulantes centrais. A reserpina também reduz os níveis de neuroaminas cerebrais como a serotonina. Por isso, um antidepressivo deve ser capaz de reverter os efeitos da

20 reserpina.

Exemplo 8: Teste de nado forçado após administração de reserpina

Procedimento:

São utilizados camundongos albinos suíços do sexo masculino pesando 25-30 mg. Todos os animais são pré-treinados individualmente para nadar por 15 minutos em um cilindro de plexiglass vertical (25 x 23 cm) contendo 12 cm de água mantida a 25°C. Eles são injetados com 5 mg/kg de reserpina, por via intraperitoneal, após 20 h de pré-treinamento. 4 horas após a administração da reserpina, a droga de teste (10, 30 e 100 mg/kg) ou o veículo ou droga padrão é administrada oralmente. Então após 60 min de tratamento os animais são individualmente forçados a nadar por 6 min, tempo durante o qual a imobilidade é registrada. Imipramina 64 mg/kg, via oral, é utilizada como padrão.

Efeito da droga de teste sobre o tempo de imobilidade após administração de reserpina

Tratamento	Tempo de imobilidade total (segundos)	% de redução da imobilidade
Veículo	146,29 ± 12,07	-
Droga de teste (5 mg/kg)	221,60 ± 6,793#	-
Droga de teste (10 mg/kg)	185,72 ± 10,30	15,99
Droga de teste (30 mg/kg)	139,92 ± 13,54**	36,71
Droga de teste (100 mg/kg)	096,72 ± 7,529**	56,25
Imipramina (100 mg/kg)	063,57 ± 3,320**	71,24

Os dados representam média ± EPM (n=6)

#P<0,01 vs. veículo, ** P<0,01 vs. reserpina, dados analisados por ANOVA seguida por teste de Dunnett.

O resultado obtido nesse teste mostrou uma redução dose-dependente na imobilidade com uma dose oral de 10, 30 e 100 mg/kg da droga de teste. Contudo, a dose de 30 e 100 mg/kg mostrou uma redução significativa (P<0,01) da imobilidade em comparação ao grupo com reserpina. O percentual de redução da imobilidade foi calculado tendo como referência o grupo com reserpina. A droga padrão, imipramina (64 mg/kg), também mostrou uma redução significativa (P<0,01) da imobilidade.

Exemplo 9: Teste de atividade locomotora após administração de reserpina

O esgotamento das aminas biogênicas no cérebro induz não só a catalepsia, ptose e hipotermia, mas também uma atividade locomotora reduzida nos roedores. A administração intraperitoneal de reserpina (5 mg/kg via intraperitoneal) em camundongos conduz a uma redução da atividade locomotora que pode ser antagonizada por antidepressivos, inibidores da MAO e estimulantes centrais.

Procedimento:

São utilizados camundongos albinos suíços do sexo masculino pesando 25-30 mg.

São administrados 5 mg/kg de reserpina por via intraperitoneal nos mesmos. Quatro horas após a administração de reserpina, a droga de teste (10, 30 e 100 mg/kg) ou o veículo ou droga padrão é administrada oralmente. Então após 60 min de tratamento os animais são colocados individualmente na gaiola de atividade (*actophotometer*) por 10 min durante os que a atividade locomotora é aferida.

Imipramina 64 mg/kg, via oral, é utilizada como padrão.

Efeito da droga de teste sobre a atividade locomotora após administração de reserpina

Tratamento	Total de contagens da atividade locomotora	% de aumento da atividade locomotora
Veículo	280,5 ± 31,79	-
Reserpina (5 mg/kg)	121,17 ± 06,112##	-
Droga de teste (10 mg/kg)	242,33 ± 04,372*	100,00
Droga de teste (30 mg/kg)	282,17 ± 08,662***	132,87
Droga de teste (100 mg/kg)	214,33 ± 18,33	076,88
Imipramina (64 mg/kg)	218,00 ± 21,48	079,91

Os dados representam média ± EPM (n=8)

##P<0,01 vs. veículo, ** P<0,05 vs. reserpina, ***P<0,001 vs. reserpina, dados analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn.

O resultado obtido nesse teste mostrou um efeito independente da dose no aumento

da atividade locomotora com a dose oral de 10, 30 e 100 mg/kg da droga de teste. Contudo, na dose de 10 mg/kg ($P < 0,05$) e 30 mg/kg ($P < 0,001$) a droga de teste mostrou uma atividade significativa em comparação ao grupo com reserpina. Os percentuais de aumento da atividade locomotora foram calculados tendo como referência o grupo com reserpina. A droga padrão, imipramina (64 mg/kg) não mostrou aumento significativo na atividade locomotora.

Exemplo 10: potencialização do 5-hidroxitriptofano (L 5-htp) em camundongos

Vários agentes antidepressivos potencializam os efeitos da serotonina através do bloqueio da reabsorção da serotonina. O 5-hidroxitriptofano é utilizado como precursor da serotonina.

Procedimento:

São utilizados grupos de 6 camundongos albinos suíços (25-30 g). Eles são tratados com a droga de teste (10, 30 e 100 mg/kg, via oral) ou com o veículo ou a droga padrão 60 min antes dos 75mg/kg por via intraperitoneal de L-5-hidroxitriptofano (5-HTP). Os camundongos são então colocados em jarros de vidro e o número de convulsões na cabeça é aferido em cinco intervalos de 2 min (entre 14 e 16, 24 e 26, 34 e 36, 44 e 46 e 54 e 56 min). Fluoxetina 100 mg/kg via oral e imipramina 64 mg/kg via oral são utilizadas como padrão.

Efeito da droga de teste sobre as convulsões da cabeça na potencialização de 5-HTP

Tratamento	Número total de convulsões da cabeça Média $\pm$ EPM	% de aumento do número de convulsões da cabeça
Veículo	21,625 $\pm$ 1,752	-
Droga de teste (10 mg/kg)	52,625 $\pm$ 6,050	143,35
Droga de teste (30 mg/kg)	62,250 $\pm$ 6,239	187,86
Droga de teste (100 mg/kg)	95,375 $\pm$ 4,617***	341,04
Fluoxetina (100 mg/kg)	108,750 $\pm$ 3,702***	402,89
Imipramina (64 mg/kg)	13,25 $\pm$ 2,477	-38,73

Os dados representam média $\pm$ EPM (n=8)

***P<0.001 vs. veículo, dados analisados através do Kruskal-Wallis seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn.

O resultado obtido nesse teste mostrou um aumento significativo (P<0,001) das convulsões da cabeça com a dose oral de 100 mg/kg da droga de teste. O efeito foi dose-dependente. O percentual de aumento das convulsões da cabeça foi calculado tendo como referência o grupo com o veículo. A droga padrão, a fluoxetina (100 mg/kg, via oral), mostrou um aumento significativo (P<0,001) das convulsões da cabeça, mas a imipramina (64 mg/kg, via oral) não apresentou um aumento significativo das convulsões da cabeça.

Observa-se que os animais aos quais foi administrada fluoxetina tiveram diarreia e apresentaram agitação. Já o grupo da droga de teste não teve diarreia e os animais não estavam agitados. A droga de teste é tão potente quanto a fluoxetina sem os efeitos colaterais usuais.

Exemplo 11: Efeito da droga de teste sobre a estrutura da mucosa gástrica

6 ratos wistar foram tratados com a droga de teste. A droga de teste foi dosada em 3 doses, a saber: 30, 60 e 120 mg/kg oralmente. 6 horas após a administração, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e o estômago foi dissecado. O mesmo foi cortado ao longo da curvatura maior e lavado com salina.

A Fig. 1 representa o estômago do animal tratado com uma dose de 30 mg/kg da droga de teste.

A Fig. 2 representa o estômago do animal tratado com uma dose de 60 mg/kg da droga de teste.

A Fig. 3 representa o estômago do animal tratado com uma dose de 120 mg/kg da droga de teste.

Essas figuras mostram “sulcos” na parte glandular do estômago. Os sulcos aumentam de forma dose-dependente com a droga de teste. As doses da droga de teste de 60 mg/kg e 120 mg/kg mostram uma formação de sulcos mais proeminente. Esses sulcos indicam a contratibilidade do estômago. Por isso, o aumento da

5 formação de sulcos implica um movimento peristáltico aumentado no estômago. Esse movimento é indicativo de um índice mais elevado de esvaziamento gástrico.

A descrição acima é ilustrativa das várias incorporações da invenção e não deve ser interpretada como limitativa, sendo compreendido que a pessoa habilitada na arte poderá realizar diversas variações óbvias da presente invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, caracterizada por** incluir glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside opcionalmente junto com excipientes aceitáveis.
- 5 2. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelos** glicosídeos terpenóides pentacíclicos serem obtidos a partir de fontes vegetais ou animais, preferivelmente da planta *Centella asiatica*.
3. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, de**
10 **acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela** concentração de asiaticoside variar de 15 a 50% e a concentração de madecassoside varia de 20 a 50%.
4. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelos** excipientes serem selecionados a partir de um grupo incluindo agentes de granulação, agentes de ligação, agentes
15 lubrificantes, agentes de desintegração, adoçantes, fluidificantes, anti-aderentes, agentes anti-estáticos, agentes tensoativos, anti-oxidantes, gomas, agentes de revestimento, agentes de coloração, aromatizantes, plastificantes, conservantes, agentes de suspensão, emulsificantes e agentes de esferonização.
5. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, de**
20 **acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela** composição ser formulada em várias formas de dosagem a partir de um grupo consistindo em tabletes, pastilhas, comprimidos, suspensões aquosas ou oleosas, pomadas, patches, gel, loção, dentifrício, cápsulas, emulsões, cremes, sprays, gotas, pós ou grânulos dispersáveis, emulsão em cápsulas de gel duras ou macias, xaropes, elixires,
25 fitocêuticos, nutracêuticos e alimentos.

6. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, caracterizado por incluir glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside, onde tal processo inclui as etapas de:

a. obtenção do extrato da planta *Centella asiatica*

5 b. filtração e concentração do extrato obtido da planta *Centella asiatica*

c. dissolução do extrato concentrado em um solvente para obter uma solução;

d. tratamento da solução com os solventes para remover substâncias graxas, clorofila e outros corantes;

e. passagem da solução tratada por adsorventes para obter uma solução clara;

10 e

f. concentração da solução clara para obter a composição.

7. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo solvente ser selecionado a partir de um grupo incluindo compostos aromáticos heterocíclicos, compostos alifáticos, cetonas, álcoois, nitrilas, ésteres, éter e misturas de um ou mais destes.

15

8. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 6(a), caracterizado pelo solvente utilizado para a extração ser preferivelmente um álcool alifático.

9. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 6(a), caracterizado pela extração ser realizada a uma temperatura variando de 20 a 38°C, preferivelmente a 30°C.

20

10. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 6(a), caracterizado pela extração ser realizada por 6 a 10 h, preferivelmente por 8h.

25

11. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com

a reivindicação 6(b), **caracterizado pela** concentração ser realizada a uma temperatura variando de 40 a 50°C, preferivelmente 45°C.

12. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 6(c), **caracterizado pelo** solvente ser preferivelmente água deionizada.

13. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 6(d), **caracterizado pelo** solvente ser selecionado a partir de um grupo contendo hexano, éter de petróleo e metilisobutilcetona.

14. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 6(e), **caracterizado pelo** adsorvente ser selecionado a partir de um grupo contendo resina, carvão vegetal, sílica gel e uma mistura dos mesmos.

15. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 6(f), **caracterizado pela** concentração ser realizada a uma temperatura variando de 50 a 65°C.

16. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, **caracterizado por** conter glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside opcionalmente junto com excipientes, para fabricar um medicamento para o manejo de distúrbios mediados pela serotonina em um sujeito necessitando do mesmo.

17. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado pelo** sujeito ser um animal ou um ser humano.

18. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado pela** composição ser administrada em uma dosagem variando de 15-150 mg/kg de peso corporal em animais e 1-15 mg/kg de peso corporal em seres humanos.

19. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 16,

caracterizado pelos transtornos mediados pela serotonina serem depressão, obesidade, esvaziamento gástrico, elevação do humor e outros transtornos envolvendo a serotonina.

20. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 16,

5 **caracterizado pela** composição ser não tóxica e livre de efeitos adversos.

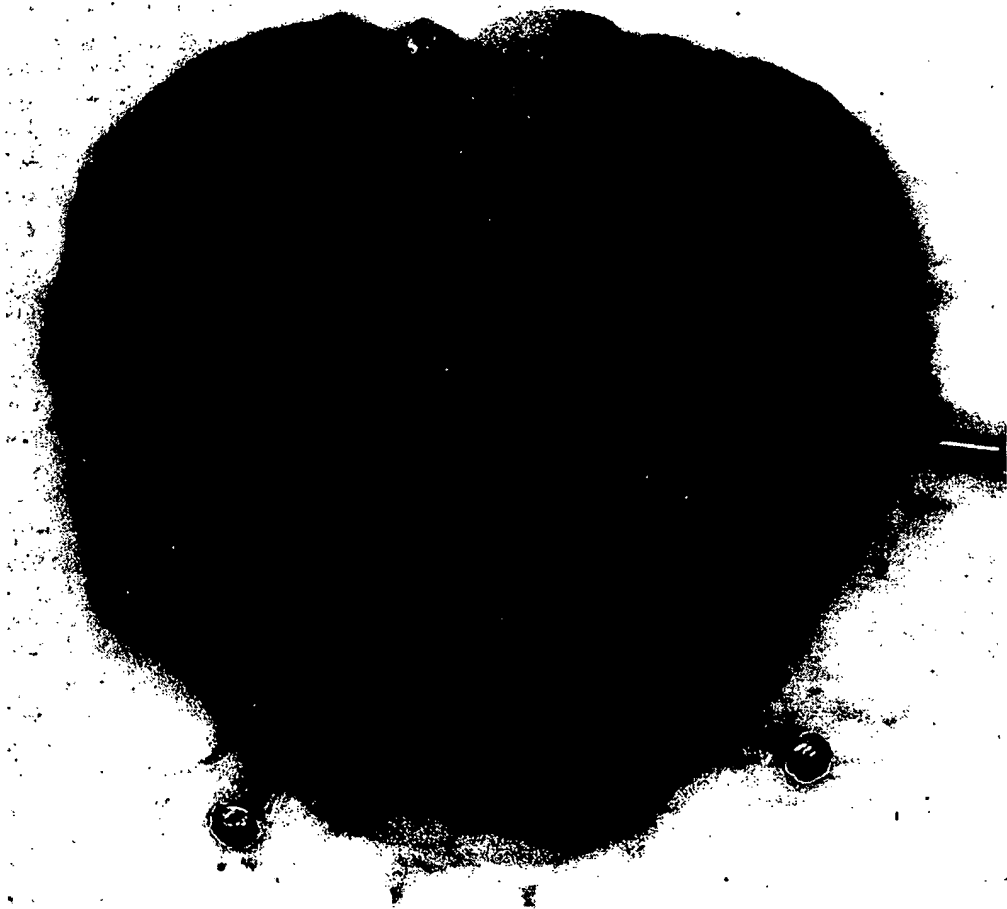


Figura 1

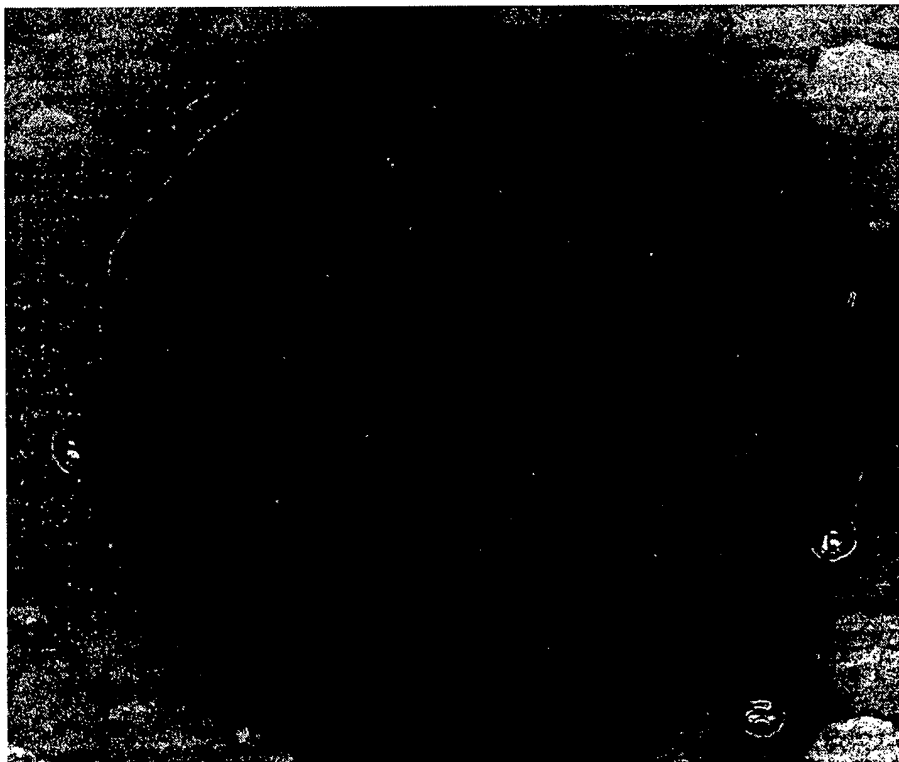


Figura 2



Figura 3

RESUMO

COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO SELETIVA DA ABSORÇÃO DE SEROTONINA E PROCESSO DA MESMA. A presente invenção diz respeito a uma nova composição farmacêutica sinérgica para inibição da absorção de serotonina, em que tal composição inclui glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside opcionalmente junto com excipientes. A presente invenção também diz respeito a excipientes; um processo de preparação da nova composição farmacêutica sinérgica para inibição da reabsorção de serotonina, onde o processo inclui as etapas de: (a) obtenção do extrato da planta *Centella asiática*; (b) tratamento do extrato com solventes para remover substâncias graxas, clorofila e outros corantes; (c) purificação do extrato através de HPLC para obter o solvente eluído; e (d) concentração do solvente eluído para chegar à composição. A invenção também diz respeito à composição e ao uso de uma composição incluindo glicosídeos terpenóides pentacíclicos, preferivelmente asiaticoside e madecassoside opcionalmente junto com excipientes para fabricar um medicamento para inibição da reabsorção de serotonina em um sujeito que necessita do mesmo.

REIVINDICAÇÕES

1. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, caracterizada por** incluir asiaticoside a uma concentração variando de 15 a 50% e madecassoside a uma concentração variando de 20 a 50% opcionalmente junto com excipientes aceitáveis.
2. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelos** asiaticoside e madecassoside serem obtidos a partir de fontes vegetais ou animais, preferivelmente da planta *Centella asiatica*.
3. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelos** excipientes serem selecionados a partir de um grupo incluindo agentes de granulação, agentes de ligação, agentes lubrificantes, agentes de desintegração, adoçantes, fluidificantes, anti-aderentes, agentes anti-estáticos, agentes tensoativos, anti-oxidantes, gomas, agentes de revestimento, agentes de coloração, aromatizantes, plastificantes, conservantes, agentes de suspensão, emulsificantes e agentes de esferonização.
4. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pela** composição ser formulada em várias formas de dosagem a partir de um grupo consistindo em tabletes, pastilhas, comprimidos, suspensões aquosas ou oleosas, pomadas, patches, gel, loção, dentifrício, cápsulas, emulsões, cremes, sprays, gotas, pós ou grânulos dispersíveis, emulsão em cápsulas de gel duras ou macias, xaropes, elixires, fitocêuticos, nutracêuticos e alimentos.
5. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO, caracterizado por** incluir asiaticoside a uma concentração de 15 a 50% e madecassoside a uma

concentração variando de 20 a 50%, onde tal processo inclui as etapas de:

- a. filtração e concentração do extrato obtido da planta *Centella asiatica*
- b. dissolução do extrato concentrado em um solvente para obter uma solução;
- 5 c. tratamento da solução com os solventes para remover substâncias graxas, clorofila e outros corantes;
- d. passagem da solução tratada por um adsorvente na coluna e sua lavagem com solvente para obter o eluato; e
- e. concentração do eluato para obter a composição.

10 6. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado pelo** solvente ser selecionado a partir de um grupo incluindo compostos aromáticos heterocíclicos, compostos alifáticos, cetonas, álcoois, nitrilas, ésteres, éter e misturas de um ou mais destes.

15 7. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(a), **caracterizado pelo** solvente utilizado para a extração ser preferivelmente um álcool alifático.

8. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(a), **caracterizado pela** extração ser realizada a uma temperatura variando de 20 a 38°C, preferivelmente a 30°C.

20 9. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(a), **caracterizado pela** extração ser realizada por 6 a 10 h, preferivelmente por 8h.

10. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(a), **caracterizado pela** concentração ser realizada a uma
25 temperatura variando de 40 a 50°C, preferivelmente 45°C.

11. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(b), **caracterizado pelo** solvente ser preferivelmente água deionizada.

12. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(c), **caracterizado pelo** solvente ser selecionado a partir de um grupo contendo hexano, éter de petróleo e metilisobutilcetona.

13. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(d), **caracterizado pelo** adsorvente ser selecionado a partir de um grupo contendo resina, carvão vegetal, sílica gel e uma mistura dos mesmos.

14. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(e), **caracterizado pela** concentração ser realizada a uma temperatura variando de 50 a 65°C.

15. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, **caracterizado por** conter asiaticoside a uma concentração variando de 15 a 50% e madecassoside a uma concentração variando de 20 a 50%, opcionalmente junto com excipientes, para fabricar um medicamento para o manejo de distúrbios mediados pela serotonina em um sujeito necessitando do mesmo.

16. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado pelo** sujeito ser um animal ou ser humano.

17. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado pela** composição ser administrada em uma dosagem variando de 15-150 mg/kg de peso corporal em animais e 1-15 mg/kg de peso corporal em seres humanos.

18. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado pelos** distúrbios mediados pela serotonina serem depressão,

obesidade, esvaziamento gástrico, elevação do humor e outros transtornos envolvendo a serotonina.

19. USO DE UMA COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pela composição ser não tóxica e livre de efeitos adversos.

REIVINDICAÇÕES

1. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, caracterizada por** incluir asiaticoside a uma concentração variando de 15 a 50% e madecassoside a uma concentração variando de 20 a 50% opcionalmente junto com excipientes aceitáveis.
2. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelos** asiaticoside e madecassoside serem obtidos a partir de fontes vegetais ou animais, preferivelmente da planta *Centella asiatica*.
3. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelos** excipientes serem selecionados a partir de um grupo incluindo agentes de granulação, agentes de ligação, agentes lubrificantes, agentes de desintegração, adoçantes, fluidificantes, anti-aderentes, agentes anti-estáticos, agentes tensoativos, anti-oxidantes, gomas, agentes de revestimento, agentes de coloração, aromatizantes, plastificantes, conservantes, agentes de suspensão, emulsificantes e agentes de esferonização.
4. **COMPOSIÇÃO PARA A INIBIÇÃO DA REABSORÇÃO DE SEROTONINA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pela** composição ser formulada em várias formas de dosagem a partir de um grupo consistindo em tabletes, pastilhas, comprimidos, suspensões aquosas ou oleosas, pomadas, patches, gel, loção, dentifrício, cápsulas, emulsões, cremes, sprays, gotas, pós ou grânulos dispersíveis, emulsão em cápsulas de gel duras ou macias, xaropes, elixires, fitocêuticos, nutracêuticos e alimentos.
5. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO, caracterizado por** incluir asiaticoside a uma concentração de 15 a 50% e madecassoside a uma

concentração variando de 20 a 50%, onde tal processo inclui as etapas de:

- a. filtração e concentração do extrato obtido da planta *Centella asiatica*
- b. dissolução do extrato concentrado em um solvente para obter uma solução;
- 5 c. tratamento da solução com os solventes para remover substâncias graxas, clorofila e outros corantes;
- d. passagem da solução tratada por um adsorvente na coluna e sua lavagem com solvente para obter o eluato; e
- e. concentração do eluato para obter a composição.

10 6. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado pelo** solvente ser selecionado a partir de um grupo incluindo compostos aromáticos heterocíclicos, compostos alifáticos, cetonas, álcoois, nitrilas, ésteres, éter e misturas de um ou mais destes.

15 7. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(a), **caracterizado pelo** solvente utilizado para a extração ser preferivelmente um álcool alifático.

8. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(a), **caracterizado pela** extração ser realizada a uma temperatura variando de 20 a 38°C, preferivelmente a 30°C.

20 9. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(a), **caracterizado pela** extração ser realizada por 6 a 10 h, preferivelmente por 8h.

10. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(a), **caracterizado pela** concentração ser realizada a uma
25 temperatura variando de 40 a 50°C, preferivelmente 45°C.

11. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(b), **caracterizado pelo** solvente ser preferivelmente água deionizada.
12. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(c), **caracterizado pelo** solvente ser selecionado a partir de um grupo contendo hexano, éter de petróleo e metilisobutilcetona.
13. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(d), **caracterizado pelo** adsorvente ser selecionado a partir de um grupo contendo resina, carvão vegetal, sílica gel e uma mistura dos mesmos.
14. **PROCESSO PARA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 5(e), **caracterizado pela** concentração ser realizada a uma temperatura variando de 50 a 65°C.
15. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, **caracterizado por** conter asiaticoside a uma concentração variando de 15 a 50% e madecassoside a uma concentração variando de 20 a 50%, opcionalmente junto com excipientes, para fabricar um medicamento para o manejo de distúrbios mediados pela serotonina em um sujeito necessitando do mesmo.
16. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado pelo** sujeito ser um animal ou ser humano.
17. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado pela** composição ser administrada em uma dosagem variando de 15-150 mg/kg de peso corporal em animais e 1-15 mg/kg de peso corporal em seres humanos.
18. **USO DE UMA COMPOSIÇÃO**, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado pelos** distúrbios mediados pela serotonina serem depressão,

obesidade, esvaziamento gástrico, elevação do humor e outros transtornos envolvendo a serotonina.

19. USO DE UMA COMPOSIÇÃO, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pela composição ser não tóxica e livre de efeitos adversos.