



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

(21) PI 1101146-7 A2



(22) Data de Depósito: 31/03/2011
(43) Data da Publicação: 28/05/2013
(RPI 2212)

(51) Int.Cl.:
A61K 36/77
A61P 25/28
A61P 25/00
A61K 31/522

(54) Título: FRAÇÃO ATIVA DE PAULLINIA CUPANA COM ATIVIDADE APRIMORADA NO COMBATE À FADIGA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE UMA FRAÇÃO ATIVA, USO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, MEDICAMENTO E MÉTODO DE TRATAMENTO DE FADIGA

(73) Titular(es): Auro Del Giglio, João Batista Calixto, Luiz Francisco Pianowski

(72) Inventor(es): Auro Del Giglio, João Batista Calixto, Luiz Francisco Pianowski

(57) Resumo: FRAÇÃO ATIVA DE PAULLINIA CUPANA COM ATIVIDADE APRIMORADA NO COMBATE À FADIGA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE UMA FRAÇÃO ATIVA, USO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, MEDICAMENTO E MÉTODO DE TRATAMENTO DE FADIGA. A presente invenção tem por objeto uma fração ativa de Paullinía cupana com atividade aprimorada no combate à fadiga, particularmente relacionada aos cânceres, assim como processo de fabricação, composições farmacêuticas e medicamentos contendo a mesma. Também é objeto da presente invenção um método para tratar fadiga, particularmente relacionada a cânceres.

FRAÇÃO ATIVA DE *PAULLINIA CUPANA* COM ATIVIDADE APRIMORADA NO
COMBATE À FADIGA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE UMA FRAÇÃO ATIVA,
USO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, MEDICAMENTO E MÉTODO DE
TRATAMENTO DE FADIGA

5

Campo da Invenção

A presente invenção tem por objeto uma fração ativa de *Paullinia cupana* com atividade aprimorada no combate à fadiga, particularmente relacionada aos cânceres, assim como seu processo de fabricação, composições
10 farmacêuticas e medicamentos contendo a mesma. Também é objeto da presente invenção um método para tratar fadiga, particularmente relacionada a cânceres.

Fundamentos da Invenção

A terminologia câncer engloba um conjunto de
15 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se para outras regiões do corpo (metástase). Estima-se que o número de indivíduos apresentando manifestações cancerosas deverá crescer em 55% até o ano de 2020 (Warren JL et al.:

20 *Current and Future Utilization of Services From Medical Oncologists*, J Clin Oncol.; 26:3242-3247, 2008).

O aumento da sobrevida transformou o câncer em doença crônica, e os doentes, sujeitos a maiores sofrimentos. O sofrimento provém do tumor, de outros
25 sintomas relacionados à doença, do desgaste com o tratamento e da carga emocional que envolve o diagnóstico.

Dentre os sintomas mais comuns, podem ser citadas fadiga, dor, dispneia, alterações cognitivas, perda de apetite, caquexia, náusea ou depressão.

30

Em particular, a fadiga é apontada pelos pacientes com câncer, como um dos sintomas mais frequentes, presente em todas as fases da doença, sendo também o prevaiente e o mais debilitante naqueles com câncer em estado avançado.

Estudos apontaram que cerca de 40 a 80% dos doentes relatam fadiga durante e depois do tratamento da doença (Hofman et al: *Cancer-related fatigue: the scale of the problem. Oncologist.*;12 Suppl 1:4-10, 2007).

5 Mota et al. ensina que a fadiga pode ser considerada uma síndrome subjetiva, de origem multicausal, cuja gênese e expressão envolvem aspectos físicos e psíquicos (Mota et al.: *Fadiga em pacientes com câncer avançado: conceito, avaliação e intervenção, Revista Brasileira de Cancerologia - Volume 48 n°4, 2002*).

10 A palavra fadiga também é usada cotidianamente para descrever uma série de males, que vão desde um estado genérico de letargia até uma sensação específica de calor nos músculos provocada pelo trabalho intenso. Fisiologicamente, está representada uma diminuição na capacidade geral, que pode ser perigosa quando são realizadas tarefas que demandem concentração constante, tais como dirigir um veículo, já que quando uma pessoa está suficientemente fatigada, pode experimentar períodos de
20 microssono (perda de concentração).

Relata-se que a sensação de fadiga origina-se no sistema ativador reticular na base do cérebro. Estruturas musculó-esqueléticas teriam co-evoluído com estruturas cerebrais apropriadas de modo que todo o conjunto funcione de forma construtiva e adaptativa (Edelman, G M. *The remembered present: a biological theory of consciousness*. Nova York: Basic Books, 1989).

Entretanto, apesar de frequente e debilitante, a fadiga pode ser considerada o sintoma para o qual menos se conhecem intervenções efetivas, especialmente quando comparadas às indicadas para o controle de outros sintomas, como a dor.

Assim, embora as formas de controle da fadiga

atualmente disponíveis incluem o uso de terapias farmacológicas e não farmacológicas, seu manejo ainda representa um desafio (Giglio et al.: *Fadiga relacionada ao câncer*, Algoritmos, Einstein: Educ Contin Saúde. 2010;8(1 Pt 5 2): 44).

Nesse sentido, terapias alternativas, com produtos energéticos, têm sido propostas. Por exemplo, ao guaraná (*Paullinia cupana*), que é um arbusto originário da Amazônia, amplamente usado na fabricação de xaropes, barras, pós e refrigerantes, é atribuído, dentre outros, o efeito estimulante, capaz de aumentar a resistência nos esforços mentais e musculares, diminuir a fadiga motora e psíquica, especialmente em pessoas não portadoras de câncer. Essa capacidade está relacionada à presença de alta dose de cafeína — cerca de 2,5 a 5% (Weckerle et al.: *Purine alkaloids in Paullinia*. *Phytochemistry*. 2003;64(3):735-42.)

Entretanto, embora o pó obtido a partir do fruto de *Paullinia cupana* seja popularmente indicado, como estimulante, para pacientes não portadores de câncer, estudos realizados com 75 mg em pacientes com câncer não resultaram efeitos positivos sob a fadiga (Miranda et. al: *Guarana (Paullinia cupana) for chemotherapy-related fatigue, Study carried out at Serviço de Quimioterapia of Hospital Estadual Mário Covas - Santo André (SP), Brazil*, Einstein. 2008; 6(2):195-9.)

Assim, resta a necessidade de uma alternativa efetiva no tratamento de fadiga, em particular aquela relacionada ao câncer.

Breve Descrição das Figuras

As figuras 1A a 1D apresentam comparativos entre o efeito da fração ativa de acordo com a presente invenção e um pó de guaraná disponível no mercado (nos gráficos, pó refere-se ao pó de guaraná do mercado). Pode ser verificado

o efeito do pré-tratamento com salina, veículo, dexametasona (1 mg/kg, s.c.), fração ativa (30-300 mg/kg, v.o.) ou pó (100 e 300 mg/kg, v.o.) no modelo de comportamento social (figura 1A), avaliado (0, 2, 4, 8 e 24h) após a administração do lipopolissacarídeo (LPS) e a respectiva área sobre a curva (figura 1B). Como pode ser verificado, o campo aberto (figura 1C) também foi avaliado 2h após a administração do LPS. A ingestão de alimento (figura 1D) foi avaliada 24h após a administração do LPS. As colunas representam a média de 6 - 8 animais por grupo e as barras verticais o desvio padrão da média. * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle salina; # $p < 0,05$ comparado ao grupo veículo.

As figuras 2A e 2B apresentam comparativos entre o efeito da fração ativa de acordo com a presente invenção e o pó de guaraná encontrado no mercado nos níveis de IL-6 circulante e IL-1 β cerebral (nos gráficos, pó refere-se ao pó de guaraná convencional). Verifica-se o efeito do pré-tratamento com salina, veículo, dexametasona (1 mg/kg, s.c.), fração ativa (100 mg/kg, v.o.) ou pó (300 mg/kg, v.o.) nos níveis plasmáticos de IL-6 (figura 2A) e cerebral de IL-1 β (figura 2B) 2h após a administração do lipopolissacarídeo (LPS). As colunas representam a média de 6 - 8 animais por grupo e as barras verticais o desvio padrão da média. * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle salina; # $p < 0,05$ comparado ao grupo veículo.

As figuras 3A a 3D apresentam comparativos entre o efeito da fração ativa de acordo com a presente invenção e o pó de guaraná encontrado no mercado na expressão de citocinas pró-inflamatórias no cérebro (nos gráficos, pó refere-se ao pó de guaraná disponível no mercado). Verifica-se o efeito do pré-tratamento com salina, veículo, dexametasona (1 mg/kg, s.c.), fração ativa (100 mg/kg, v.o.) ou pó (300 mg/kg, v.o.) na expressão de RNA mensageiro das

citocinas IL-6 (figura 3A), TNF- α (figura 3B), IL-12 (figura 3C) e INF- γ (figura 3D), 2h após a administração do lipopolissacarídeo (LPS). As colunas representam a média de 6 - 8 animais por grupo e as barras verticais o desvio padrão da média. *p<0,05 comparado ao grupo controle salina; # p<0,05 comparado ao grupo veículo.

Descrição da Invenção

A presente invenção refere-se a uma fração ativa de *Paullinia cupana* que é eficaz no tratamento de fadiga, particularmente relacionada aos cânceres. Referida fração ativa contém teor médio de teobromina variando entre cerca de 0,05 a cerca de 1% em peso, particularmente cerca de 0,1% em peso e, particularmente, cerca de 10 a cerca de 20% em peso de cafeína.

De acordo com a presente invenção, por "fração ativa" entendem-se quaisquer frações provenientes de *Paullinia cupana*, que contenham os teores médios dos compostos conforme descrito acima, particularmente do pó da semente de *Paullinia cupana*, acordo com o processo descrito no presente relatório descritivo.

Por "teobromina" entende-se o composto denominado 3,7-dimetilxantina o 3,7-diidro-3,7-dimetil-1H-purina-2,6-diona, também conhecido como xanteose, com número de registro no CAS 83-67-0 (*Chemical Abstract Service*), assim seus derivados.

Por "cafeína" entende-se o composto denominado 1,3,7-trimetilxantina, com número de registro no CAS 58-08-2, assim seus derivados.

Por "pó de guaraná", o qual é utilizado como parâmetro de comparação nos testes apresentados no presente relatório descritivo, bem como matéria-prima de partida no processo de acordo com a presente invenção, entende-se aquele obtido por processo convencional, que inclui a moagem

da semente de *Paullinia cupana*, a qual foi previamente torrada e descascada, tal como mencionado na publicação de Oliveira Júnior et al: *projeto potencialidades regionais, estudo de viabilidade econômica, guaraná*, Instituto Superior de Administração e Economia ISAE/Fundação Getúlio Vargas (FGV), 2003, aqui incorporado como referência.

Entende-se por "fadiga" um conjunto de sintomas verificados clinicamente que alterem de modo significativo a capacidade geral do paciente, de origem multicausal, cuja gênese e expressão envolvem aspectos físicos e psíquicos (vide publicação de Giglio et al.: *Fadiga relacionada ao câncer*, Algoritmos, Einstein: Educ Contin Saúde. 2010;8(1 Pt 2): 44, aqui incorporado como referência). Os termos astenia, letargia, exaustão, sensação de fraqueza, cansaço extremo e falta de motivação podem ser aqui mencionados como sinônimos para fadiga.

Por "eficácia de tratamento" entende-se que o quadro geral do paciente seja reestabelecido, de modo que este possa apresentar melhora perceptível no desempenho de funções físicas e psíquicas, como desempenho em interação social, atividade locomotora e ingestão de alimento.

Por "teor médio" entende-se a quantidade do composto marcador em-relação à massa total da fração ativa.

A fração ativa de acordo com a presente invenção é preparada a partir do pó de guaraná. Assim, em um segundo aspecto, a presente invenção está relacionada ao processo de produção de uma fração ativa a partir de pó de guaraná, que compreende:

A) Submeter o pó de guaraná à extração, particularmente em um agitador, com uma mistura de álcool inferior (C₁ a C₃) e água, particularmente em proporção de cerca de 70:30, por cerca de 0,5 a 2 horas, em que a relação pó:mistura é de cerca de 1:2 (Kg/L);

B) O produto da etapa anterior é filtrado, obtendo-se uma primeira fração intermediária;

C) O resíduo da filtração realizada na etapa B é novamente submetido à extração e filtração, mantendo-se as mesmas condições, obtendo-se a segunda fração intermediária.

D) As frações intermediárias B e C são unidas e submetidas à secagem, particularmente em um rotaevaporador, obtendo-se a fração ativa de acordo com a presente invenção.

A fração ativa de *Paullinia cupana* pode ser fornecida diretamente ao paciente ou ser veiculada em formas farmacêuticas apropriadas. Assim, a presente invenção também está relacionada a composições farmacêuticas contendo a fração ativa de acordo com a presente invenção ou medicamentos contendo a mesma.

As composições farmacêuticas de acordo com a presente invenção podem ser líquidas, semissólidas ou sólidas e podem ser adaptadas para qualquer via de administração enteral ou parenteral, com liberação imediata ou modificada. Em realização particular, a dita composição farmacêutica é adaptada para a administração oral, particularmente na forma de comprimidos ou capsulas.

Os excipientes farmacêuticamente aceitáveis apropriados de acordo com a presente invenção são, por exemplo e sem limitação, aqueles citados no livro *Remington's Pharmaceutical Sciences*, editora Mack Publishing, Farmacopéia Americana ou Europeia ou Farmacopéia Brasileira.

Outro objeto da presente invenção refere-se ao uso da fração ativa de acordo com a presente invenção na preparação de um medicamento útil no tratamento de fadiga, particularmente relacionada ao câncer.

A presente invenção refere-se ainda a um método para tratamento de fadiga, particularmente relacionada ao

câncer, que consiste em fornecer a fração ativa de acordo com a presente invenção a um paciente necessitado.

A presente invenção é adicionalmente ilustrada pelos seguintes exemplos não limitadores.

5

EXEMPLO 1

PREPARAÇÃO DA FRAÇÃO ATIVA DE PAULLINIA CUPANA

Uma quantidade da fração ativa de acordo com a presente invenção foi preparada utilizando-se 2 Kg de pó de guaraná (Lote: PGUR0062F).

10

O pó de guaraná foi submetido à extração, em um agitador mecânico, com 4 litros de uma mistura de etanol e água, na proporção de 70:30, por 1 hora, na velocidade máxima.

15

Em seguida, o produto obtido foi filtrado, em um funil de Buckner, obtendo-se a primeira fração intermediária.

20

O resíduo da filtração foi, então, submetido à extração com 2 litros de etanol e água, na proporção de 70:30, por 1 hora, na velocidade máxima. O produto obtido foi filtrado, também em um funil de Buckner, obtendo-se a segunda fração intermediária.

25

As duas frações intermediárias foram misturadas e submetidas a secagem em um rotaevaporador, obtendo-se cerca de 500 gramas da fração ativa de acordo com a presente invenção.

EXEMPLO 2

QUANTIFICAÇÃO DOS TEORES DE TEOBROMINA E CAFEÍNA

30

As 500 gramas da fração ativa de acordo com a presente invenção foram submetidas à análise por HPLC (*High-performance liquid chromatography*) para determinação dos teores de teobromina e cafeína.

A curva analítica foi preparada pesando-se cerca de 10 mg dos padrões analíticos de teobromina e cafeína em

balões volumétricos de 25 mL e avolumando-se com a fase móvel. A partir destas soluções estoque, foram feitas diluições sucessivas para construção da curva analítica para os padrões, filtradas em membrana de 0,45 µm e injetar em

5 cromatógrafo.

As amostras foram preparadas pesando-se analiticamente cerca de 50mg da amostra em balão volumétrico de 25mL e completando-se o volume com a fase móvel, filtrando-se em membrana de 0,45µm e injetando-se no

10 cromatógrafo.

As condições cromatográficas para análise de teobromina foram:

- Sistema LC-DAD Waters Alliance composto por bomba 2695, forno para aquecimento de colunas, detector de arranjo de

15 diodos 2996 e software Empower® (Empower Software Solutions, Inc, US).

- Coluna: Atlantis dC-18 100x2,1mm 3µm com pré (35°C)

- Eluente: 0,1% de ácido fórmico / metanol (95/5 v/v)

- Vazão: 0,25 ml/minuto

20 - Detecção a 273 nm

- Volume injetado: 20 µL

As condições cromatográficas para análise de cafeína foram:

- Sistema LC-DAD Waters Alliance composto por bomba 2695,

25 forno para aquecimento de colunas, detector de arranjo de diodos 2996 e software Empower®.

- Coluna: NOVA PAK CN HP (150 x 3,9 x 4 µm) (30°C)

- Eluente: 2mM ácido fosfórico / metanol (95/5 v/v)

- Vazão: 0,8 ml/minuto

30 - Detecção a 273 nm

- Volume injetado: 10 µL

O teor médio de teobromina na amostra de fração ativa de acordo com a presente invenção foi de 0,096% e o

teor médio de cafeína foi de 16,16%.

EXEMPLO 3

TESTES DE EFICÁCIA

MATERIAIS E MÉTODOS

5

ANIMAIS

Foram utilizados camundongos SPF (*Specific Pathogen Free*), da linhagem Balb/c fêmeas, pesando entre 20 - 25 g. Os animais foram mantidos em gaiolas isoladas com ventilação, sob condições estéreis (livres de patógenos), com controle de temperatura (22 ± 1 °C) e umidade (60 - 80%) em ciclo de 12 horas claro-escuro, com livre acesso à água e ração.

COMPORTAMENTO DA DOENÇA

Os camundongos foram sujeitos a dois testes comportamentais: um deles avalia a interação e exploração social (Fishikin et al: *Endotoxin-induced reduction of social investigation by mice: interaction with amphetamine and anti-inflammatory drugs. Psychopharmacology* (Berl) 132, 335-341, 1997), enquanto que o outro modelo avalia a atividade locomotora (Dunn et al: *Effects of interleukin-1 and endotoxin in the forced swim and tail suspension tests in mice. Pharmacology Biochemistry and Behavior* 81, 688-693, 2005). Além disso, a ingestão de alimento foi monitorada no período de 24 h horas.

25

INTERAÇÃO SOCIAL, ATIVIDADE LOCOMOTORA E

INGESTÃO DE ALIMENTO

Os animais foram divididos em oito grupos experimentais. Os grupos controles receberam salina ou veículo pela via oral (v.o.). Um grupo foi tratado com dexametasona pela via subcutânea (DEX; 1mg/kg, s.c.). Três grupos foram tratados com fração ativa de acordo com a presente invenção (30 - 300 mg/kg, v.o.) e, por fim, dois grupos foram tratados com o pó de guaraná (100 e 300 mg/kg,

v.o.).

No grupo controle negativo foi administrado salina 1h após o tratamento. Nos outros grupos foi administrado 100 µl de lipopolissacarídeo (LPS; 2,5µg/camundongo, i.p.) 1h após os respectivos tratamentos.

As avaliações foram realizadas através de três critérios: interação na exploração social, sendo realizado após a introdução de um camundongo juvenil por 5 minutos dentro da caixa com um camundongo teste. As avaliações foram feitas imediatamente antes e depois da administração de LPS ou salina (0, 2, 4, 8 e 24h). Outro critério de avaliação comportamental foi o monitoramento da ingestão de alimento, por meio da pesagem após 24h da administração de LPS. E por fim, com o objetivo de verificar alterações locomotoras, os camundongos foram submetidos ao teste do campo aberto por 6 minutos, sendo este experimento realizado 2h após a administração do LPS. O aparato consiste em uma caixa com assoalho de arena dividido em 12 quadrados iguais. Durante o experimento, cada camundongo foi colocado no centro do campo aberto. O número de cruzamentos com todas as patas foram registrados e tomados como índice de atividade locomotora.

DOSAGEM DE CITOCINAS

Os níveis de IL-1 β e IL-6 foram avaliados como descrito anteriormente (Ferreira et al: *the use of kinin B1 and B2 receptor knockout mice and selective antagonists to characterize the nocieptive responses caused by kinins at the spinal level. Neuropharmacology* 43, 1188-1197, 2002), com poucas modificações. O sangue e o cérebro foram coletados 2h após a administração de LPS (2,5µg/camundongo, i.p.). O sangue foi coletado com heparina (50UI/ml) e imediatamente centrifugado a 10.000 r.p.m. por 15 minutos. O plasma foi retirado e armazenado a -70°C para futura análise das citocinas. Os cérebros foram removidos e homogeneizados

com PBS contendo Tween 20 (0.05%), fluoreto de fenilmetilsulfonil 0.1 mM, cloreto de benzometônio 0.1 mM, EDTA 10 mM, e aprotinina A 2 ng/ml. A solução formada foi centrifugada a 3.000 x g por 10 minutos a 4°C, e o sobrenadante armazenado a -70°C. Os níveis das citocinas foram determinados utilizando-se kits específicos de ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*, R&D systems, US) de acordo com as recomendações do fabricante.

TRANSCRIÇÃO REVERSA SEGUIDA DE REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL (REAL TIME-RT-PCR)

10

A fim de determinar alterações na expressão do RNA mensageiro (RNAm) das citocinas IL-6, IL-12, TNF- α e INF- γ , o cérebro foi coletado 2h após a administração de LPS (2,5 μ g/camundongo, i.p) e submetido à técnica do RT-PCR. O RNAm foi extraído do cérebro, quantificado e as sequências correspondentes aos fatores, IL-6, IL-12, TNF- α e INF- γ foram amplificadas com oligonucleoídeos específicos. As amostras foram homogeneizadas em trizol conforme as recomendações do fabricante.

15

Para a reação de transcrição reversa, foi utilizada a enzima *Moloney Murine Leukemia Virus* (M-MLV) (Invitrogen, US).

20

Amostras contendo 2 μ g de RNA total foram incubadas em um volume final de 20 μ L de reação, conforme recomendações do fabricante.

25

Para a obtenção do DNA complementar, a mistura foi submetida à temperatura de 20°C por 10 min, 42°C por 45 min e 95°C por 5 min.

30

O sistema de detecção *iCycle iQ Real Time PCR* (Bio-Rad, US) foi utilizado para obtenção dos dados de amplificação do cDNA em tempo real.

Para a reação de PCR foi utilizado o kit *Master Mix TaqMan* e *TaqMan Gene Expression* (Applied Biosystems,

US). O GAPDH de cada amostra foi simultaneamente amplificado para posterior normalização dos resultados. A fluorescência foi registrada ao final de cada fase de extensão (72°C). Os dados gerados pelo fluoróforo da sonda TaqMan foram analisados e o cálculo da amplificação do cDNA para L-6, IL-12, TNF- α e INF- γ foram normalizados utilizando o GAPDH.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados estão expressos como média +/- desvio padrão da média. A diferença estatística foi realizada pela ANOVA de uma via seguida do teste *Student Newman-Keuls* e para duas vias foi utilizado o teste de *Bonferroni*. As análises estatísticas foram realizadas usando-se o software *Graphpad Prism 4* (GraphPad Software Inc., San Diego, EUA).

RESULTADOS

O FRAÇÃO ATIVA DE ACORDO COM A PRESENTE INVENÇÃO E O PÓ DE GUARANÁ PROTEGEM DO DÉFICIT SOCIAL E LOCOMOTOR INDUZIDOS PELO LPS.

O primeiro objetivo do estudo foi verificar se o tratamento com diferentes doses do fração ativa de acordo com a presente invenção ou pó de guaraná protegiam do prejuízo social e locomotor induzidos pelo LPS. Para isto, foi realizado o teste de interação social, atividade locomotora e ingestão de ração em todos os grupos experimentais. Os animais que receberam veículo + LPS apresentaram prejuízo na interação social de forma dependente do tempo (Figura 1A) também observada na área sobre a curva (Figura 1B), bem como redução significativa no número de cruzamentos do campo aberto (Figura 1C). Além disso, no grupo veículo + LPS houve redução significativa na ingestão de alimento (Figura 1D).

O tratamento com o fração ativa de acordo com a presente invenção foi capaz de aumentar a interação social e

a ingestão de alimento de forma dependente da dose, com significativa melhora tanto em 100 mg/kg quanto em 300 mg/kg (Figura 1A, B e D).

O tratamento com o pó de guaraná melhorou parcialmente a interação social e a ingestão de alimento, sendo este efeito somente observado na dose de 300 mg/kg (Figura 1A, B e D). O controle dexametasona foi capaz de proteger parcialmente o prejuízo social induzido pelo LPS (Figura 1A e B), bem como aumentou também a ingestão de ração (Figura 1D).

O fração ativa de acordo com a presente invenção e o pó de guaraná modulam a IL-1 β cerebral, mas não alteram os níveis de IL-6 circulante induzidas pelo LPS.

De maneira complementar, pelo fato do LPS reduzir a interação social e o tratamento com fração ativa de acordo com a presente invenção e com pó de guaraná melhorar de forma significativa este parâmetro, investigou-se o papel das citocinas IL-6 e IL-1 β neste efeito.

Para este propósito, avaliaram-se os níveis plasmáticos de IL-6 e cerebrais de IL-1 β nos grupos salina, veículo, dexametasona (1 mg/kg, s.c.), fração ativa de acordo com a presente invenção (100 mg/kg, v.o.) ou pó de guaraná (300 mg/kg, v.o.) 2h após a administração do LPS em camundongos (Figura 2A e B).

Os níveis plasmáticos de IL-6 foram significativamente elevados nos grupos que receberam LPS em relação ao grupo salina. Os tratamentos com fração ativa de acordo com a presente invenção e com pó de guaraná não protegeram do aumento da IL-6 plasmática, porém o controle dexametasona reduziu de forma significativa a IL-6 em relação ao grupo veículo (Figura 2A). Observou-se que o LPS foi capaz de aumentar os níveis cerebrais de IL-1 β (Figura 2B). Verificou-se proteção total nos níveis de IL-1 β

cerebral em animais tratados com fração ativa de acordo com a presente invenção e pó do guaraná, bem como dexametasona (Figura 2B).

A. FRAÇÃO ATIVA DE ACORDO COM A PRESENTE MODULA A EXPRESSÃO
5 DE CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS INDUZIDAS PELO LPS

Sabe-se que citocinas pró-inflamatórias produzidas e liberadas no cérebro estão diretamente relacionadas com o comportamento de doenças e, conseqüentemente, tem efeito na locomoção e na ingestão de alimentos. Sendo assim,
10 investigou-se a expressão de mediadores pró-inflamatórios no cérebro.

Para este propósito, avaliou-se a expressão das citocinas IL-6, IL-12, TNF- α e INF- γ 2h após a administração do LPS. Observou-se que o LPS induz a expressão cerebral
15 destas citocinas, o que poderia explicar o fato dos animais tratados com veículo e posteriormente com LPS apresentaram prejuízo locomotor, redução da interação social e baixa ingestão de alimentos.

O tratamento com o fração ativa de acordo com a
20 presente invenção (100 mg/kg, v.o.) foi capaz de reduzir de forma significativa a expressão de IL-6, TNF- α e INF- γ (Figura 3A, B e D). Já o tratamento como o pó de guaraná (300 mg/kg, v.o.) não alterou os níveis de RNAm das citocinas induzidas pelo LPS. O controle dexametasona
25 diminuiu significativamente os níveis de RNAm do INF- γ (Figura 3D). O RNAm da citocina IL-12 não apresentou diferença significativa entre os grupos experimentais.

Deve-se compreender que as realizações descritas acima são meramente ilustrativas e que qualquer modificação
30 ao longo delas pode ocorrer para um técnico no assunto. Conseqüentemente, a presente invenção não deve ser considerada limitada às realizações descritas no presente.

O homem da técnica saberá prontamente avaliar, por

meio dos ensinamentos contidos no texto e nos exemplos apresentados, vantagens da invenção e propor variações e alternativas equivalentes de realização, sem no entanto fugir ao escopo da invenção, conforme definido nas 5 reivindicações anexas.

REIVINDICAÇÕES

1. FRAÇÃO ATIVA DE *PAULLINIA CUPANA* COM ATIVIDADE APRIMORADA NO COMBATE À FADIGA caracterizada pelo fato de que compreende cerca de 0,05 a cerca de 1% em peso de teobromina.

2. FRAÇÃO ATIVA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende cerca de 0,1% em peso de teobromina.

3. FRAÇÃO ATIVA, de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 ou 2, caracterizada pelo fato de que compreende adicionalmente cerca de 10 a cerca de 20% em peso de cafeína.

4. FRAÇÃO ATIVA, de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 ou 3, caracterizada pelo fato de que a fadiga é relacionada aos cânceres.

5. PROCESSO DE PRODUÇÃO DE UMA FRAÇÃO ATIVA, de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que compreende:

A) Submeter pó de guaraná à extração com uma mistura de álcool inferior (C₁ a C₃) e água, por cerca de 0,5 a 2 horas;

B) Filtrar o produto da etapa anterior, obtendo-se uma primeira fração intermediária;

C) O resíduo da filtração realizada na etapa anterior é submetido à nova extração e filtração, mantendo-se as mesmas condições utilizadas na primeira etapa, obtendo-se a segunda fração intermediária;

D) As frações intermediárias são misturadas e submetidas à secagem, obtendo-se a fração ativa como produto final.

6. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que a mistura de álcool inferior (C₁ a C₃) e água é utilizada na proporção de cerca de 70:30.

7. PROCESSO, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que a relação pó:mistura é de cerca de 1:2 (Kg/L).

5 8. USO DE UMA FRAÇÃO ATIVA, de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de um medicamento útil no tratamento de fadiga.

10 9. USO DE UMA FRAÇÃO ATIVA, de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de ser no tratamento de fadiga.

10. USO, de acordo com uma qualquer das reivindicações 8 ou 9, caracterizado pelo fato de que a fadiga está relacionada aos cânceres.

15 11. COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA PARA TRATAMENTO DE FADIGA caracterizada pelo fato que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma fração ativa de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 7 e excipientes farmacêuticamente aceitáveis.

20 12. MEDICAMENTO PARA TRATAMENTO DE FADIGA caracterizado pelo fato que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de uma fração ativa de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 7 e excipientes farmacêuticamente aceitáveis.

25 13. MÉTODO DE TRATAMENTO DE FADIGA caracterizado pelo fato de que compreende fornecer uma fração ativa de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 7 a um paciente necessitado.

30 14. MÉTODO, de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que a fadiga está relacionada aos cânceres.

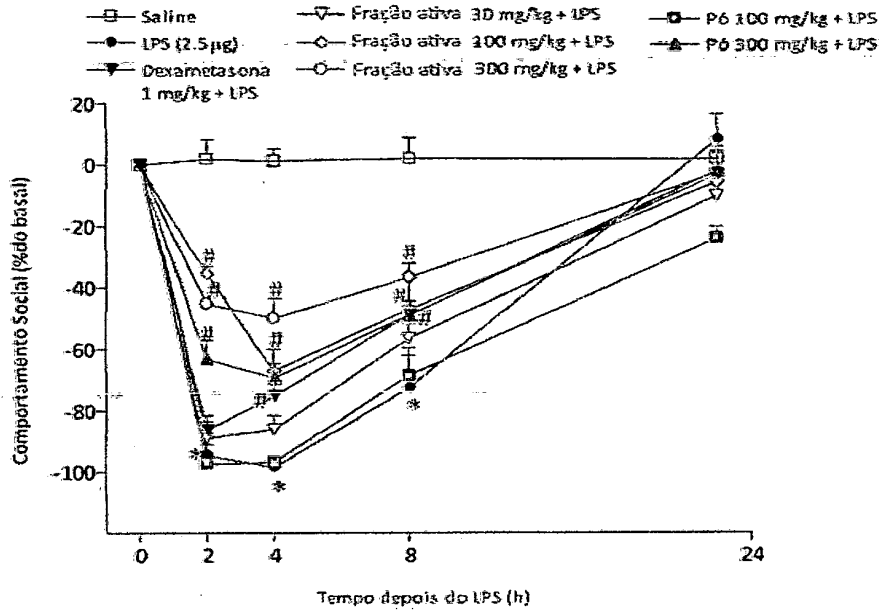


FIG. 1A



FIG. 1B

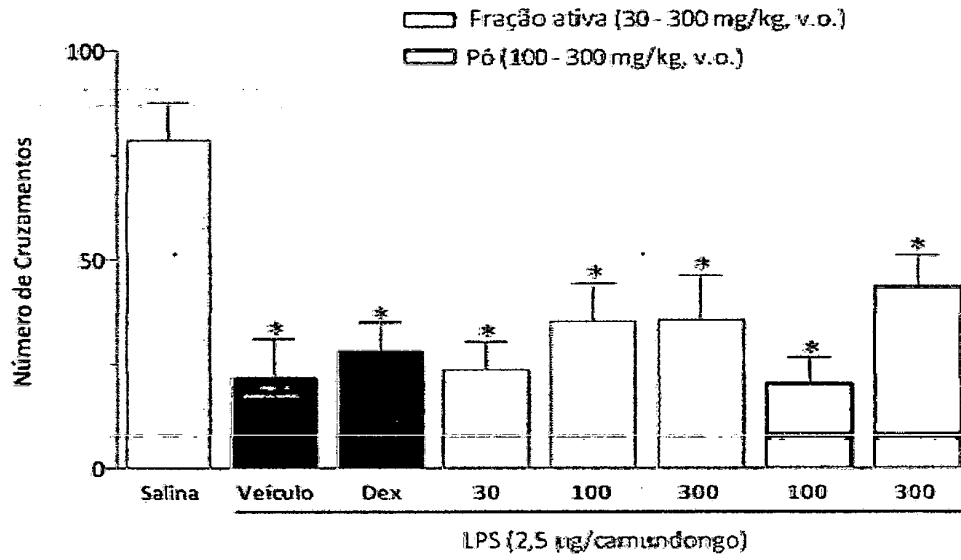


FIG. 1C

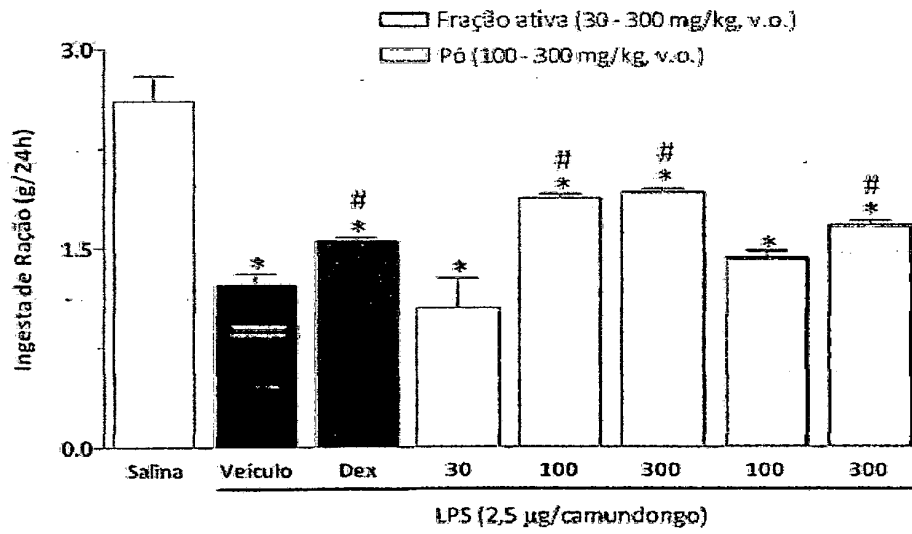


FIG. 1D

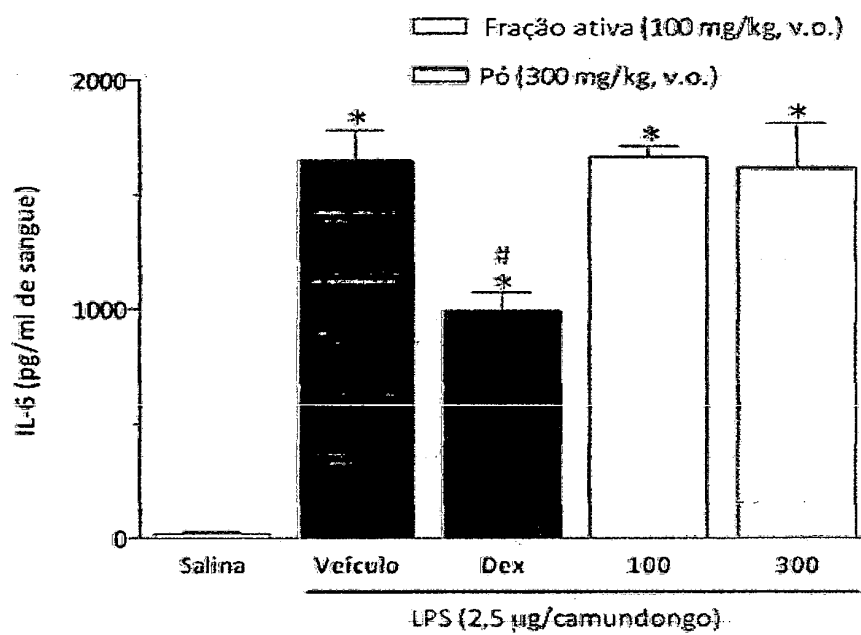


FIG. 2A

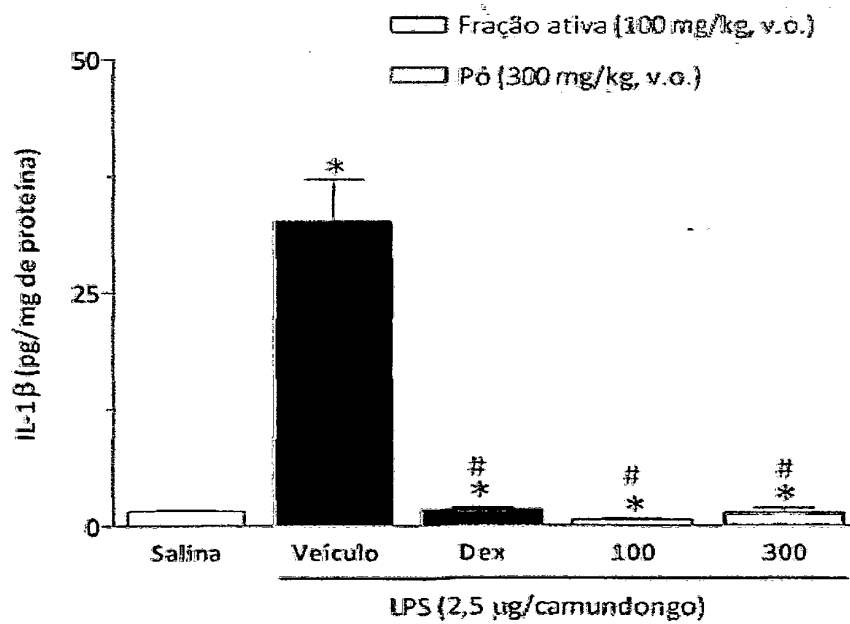


FIG. 2B

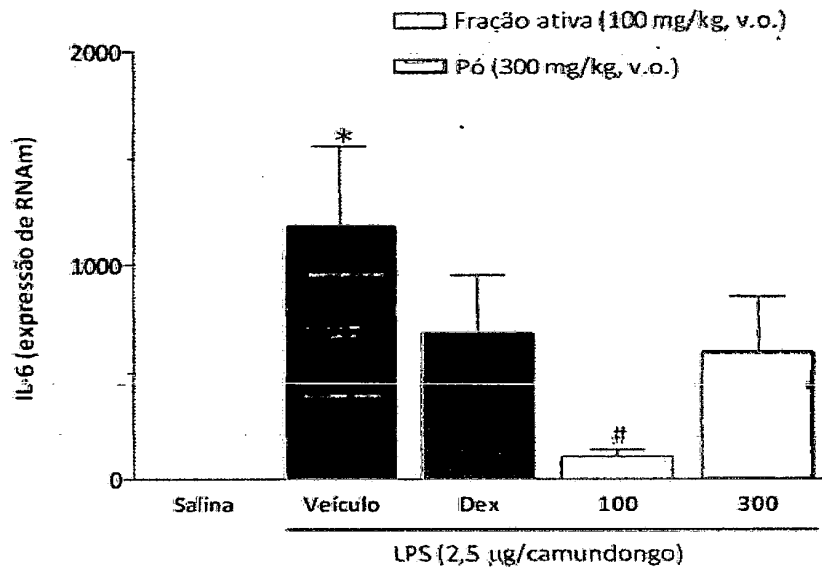


FIG. 3A

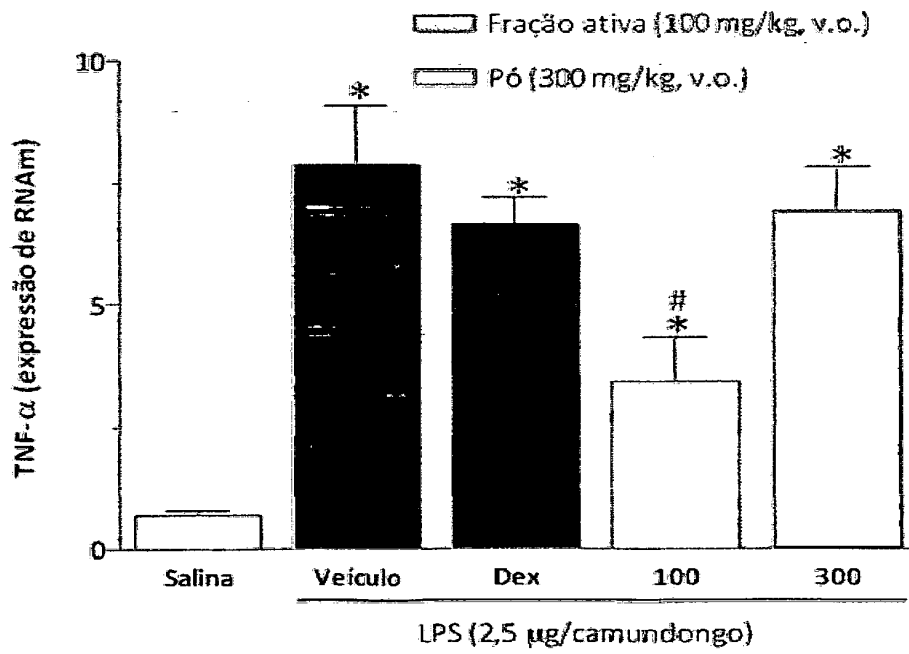


FIG. 3B

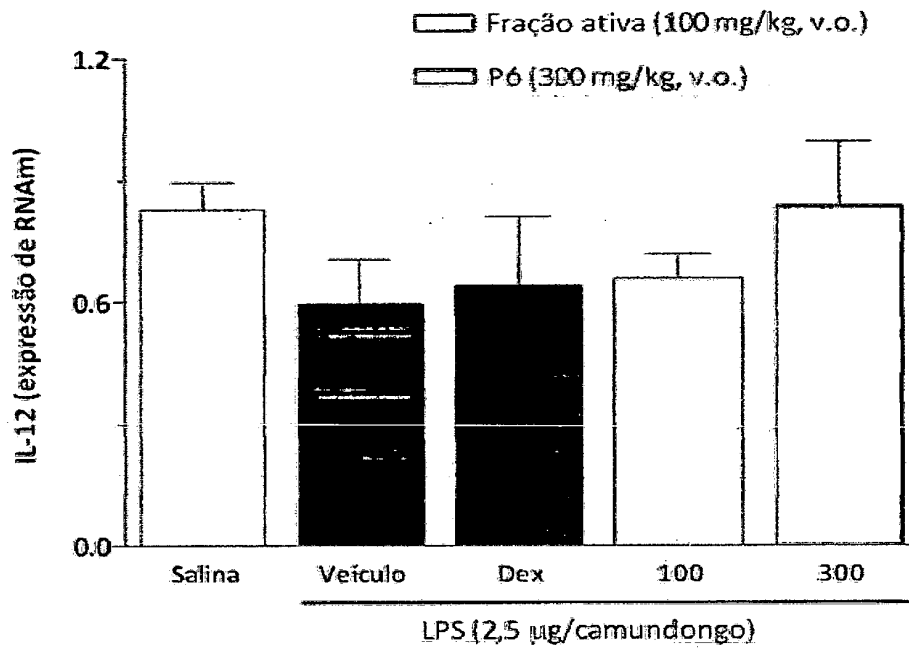


FIG. 3C

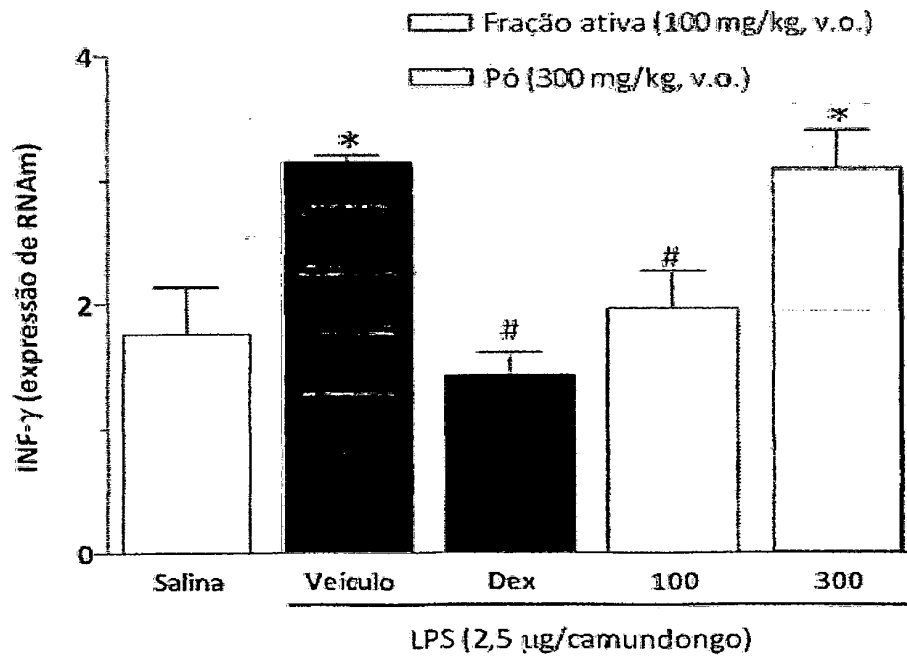


FIG. 3D

RESUMO

FRAÇÃO ATIVA DE *PAULLINIA CUPANA* COM ATIVIDADE APRIMORADA
NO COMBATE À FADIGA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE UMA FRAÇÃO
ATIVA, USO, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, MEDICAMENTO E MÉTODO
5 DE TRATAMENTO DE FADIGA

A presente invenção tem por objeto uma fração
ativa de *Paullinia cupana* com atividade aprimorada no
combate à fadiga, particularmente relacionada aos cânceres,
assim como processo de fabricação, composições
10 farmacêuticas e medicamentos contendo a mesma. Também é
objeto da presente invenção um método para tratar fadiga,
particularmente relacionada a cânceres.