



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

(21) **BR 10 2012 021840-2 A2**



(22) **Data de Depósito:** 23/08/2012

(43) **Data da Publicação:** 23/06/2015
(RPI 2320)

(54) Título: PROCESSO DE OBTENÇÃO, USO E APLICAÇÕES FARMACÊUTICAS DA FORMULAÇÃO LIPOSSOMAL CONVENCIONAL CONTENDO NIMODIPINA DIRECIONADA AO TRATAMENTO DA ANSIEDADE E DEPRESSÃO E CONVULSÃO

(51) Int.Cl.: A61K31/4422; A61K9/127; C07D211/90; A61P25/16; A61P25/22; A61P25/24

(73) Titular(es): Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Universidade Federal do Piauí (UFPI)

(72) Inventor(es): Giselle Zayra da Silva de Oliveira, Hercília Maria Lins Rolim Santos, Isabella Macário Ferro Cavalcanti, Lina Clara Gayoso e Almendra Ibiapina Moreno, Nereide Stela Santos Magalhães, Rivelilson Mendes de Freitas

(57) Resumo: PROCESSO DE OBTENÇÃO, USO E APLICAÇÕES FARMACÊUTICAS DA FORMULAÇÃO LIPOSSOMAL CONVENCIONAL CONTENDO NIMODIPINA DIRECIONADA AO TRATAMENTO DA ANSIEDADE E DEPRESSÃO E CONVULSÃO. A presente invenção diz respeito a produção, uso e aplicações farmacêuticas da preparação lipossomal contendo nimodipina (LCNa), vasodilatador pertence ao grupo das diidropirinas, na terapia de doenças do Sistema Nervoso Central (SNC). Mais especificamente, a presente invenção refere-se às metodologias usadas no preparo e ao uso dos lipossomas na produção de formulações farmacêuticas sólidas, semi-sólidas e/ou líquidas, estéreis ou não, independente da via de administração, posologia, concentração dos lipossomas na formulação e forma de liberação dos ativos. Além disso, a presente invenção diz respeito ao potencial antidepressivo, ansiolítico e anticonvulsivante da preparação e a sua utilização na formulação farmacêutica de produto(s) para a prevenção e/ou tratamento de doenças neurodegenerativas, principalmente ansiedade, depressão e convulsão.

**PROCESSO DE OBTENÇÃO, USO E APLICAÇÕES FARMACÊUTICAS DA
FORMULAÇÃO LIPOSSOMAL CONVENCIONAL CONTENDO NIMODIPINA
DIRECIONADA AO TRATAMENTO DA ANSIEDADE E DEPRESSÃO E
CONVULSÃO**

5 **Campo da invenção**

A presente invenção refere-se a uma preparação lipossomal contendo o vasodilatador nimodipina. Mais especificamente refere-se às metodologias usadas no preparo e ao uso dos lipossomas na produção de formulações farmacêuticas sólidas, semi-sólidas e/ou líquidas, estéreis ou não, independente da via de administração, posologia, concentração dos lipossomas na formulação e forma de liberação dos ativos para o tratamento de doenças associadas ao Sistema Nervoso Central, principalmente na terapia da ansiedade, depressão e convulsão.

10 **Fundamentos da invenção**

15 A nimodipina ou 2,6-dimetil-4-(3-nitofenil)-1,4-di-hidropiridina-3-5-dicarboxilato de 2-metoxietilo e de 1-metileno é um bloqueador dos canais de cálcio que apresenta fórmula molecular $C_{21}H_{26}N_2O_7$ e peso molecular de 418,4. Apresenta-se na forma de pó cristalino com coloração variando entre amarelo e amarelo claro, é praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em acetato de etila e ligeiramente solúvel em etanol, apresenta polimorfismo e é fotossensível (Farmacopéia Portuguesa. 8ª Edição. Lisboa: Imprensa Nacional, 2005).

20 A literatura descreve que concentrações aumentadas de Ca^{++} citosólico provocam um aumento das contrações de células da musculatura lisa cardíaca e vascular. Além disso, a penetração excessiva de Ca^{++} nos neurônios acarreta um processo denominado excitotoxicidade que causa danos neuronais e morte celular por necrose ou apoptose (GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado De Fisiologia Médica**. 10ª Edição. Editora Guanabara Koogan, 2002). Nesse contexto, alguns fármacos atuam no bloqueio dos canais de Ca^{++} do tipo L, N e T, impedindo a entrada do íon na célula por inibição competitiva e, consequentemente, provocando a diminuição das contrações vasculares e da

morte celular por excitotoxicidade (BERNE, R.M.; LEVY, E. **Fisiologia**. 5ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004).

As diidropiridinas, grupo de medicamentos em que se encontra a nimodipina, são antagonistas dos canais tipo L largamente utilizados na prática clínica. Devido a sua elevada lipofilicidade, essas moléculas atravessam facilmente a barreira hematoencefálica, concentrando-se no cérebro e promovendo um efeito mais pronunciado nesse órgão (GOODMAN & GILMAN. **As bases Farmacológicas da Terapêutica**. 11ª Edição. Editora MAC GRAW HILL, 2006).

Sabe-se que uma circulação cerebral mais efetiva ocasiona melhoras em inúmeras patologias, como em traumatismos cranianos, derrames cerebrais, enxaquecas e nos casos da Doença de Alzheimer. Estudos indicam que durante algumas fases da lesão cerebral o fluxo sanguíneo está diminuído e o consumo de oxigênio está aumentado, o que prejudica o estado de saúde do portador da doença. Assim, o tratamento da isquemia torna-se fundamental para uma melhora efetiva do paciente (ASLAN, A.; GURELIK, M.; CEMEK, M.; GOKSEL, H. M.; BUYUKOKUROGLU, M. E. Nimodipine can improve cerebral metabolism and outcome in patients with severe head trauma. **Pharmacological Research**, v. 59, p. 120–124, 2009).

O aumento de Ca^{++} intracelular também apresenta um importante papel na atividade epileptiforme e, por isso, antagonistas dos canais do íon constituem um alvo para o desenvolvimento de formulações antiepilépticas e neuroprotetoras. Nesse contexto a nimodipina, mostrou atividade anticonvulsivante e neuroprotetora em modelos de convulsão induzidos por pilocarpina e lítio-pilocarpina (MIKATI, M.A.; HOLMES, G.L.; WERNER, S.; BAKKAR, N.; CARMANT, L.; LIU, Z.; STAFSTROM, C.E . Effects of nimodipine on the behavioral sequelae of experimental status epilepticus in prepubescent rats. **Epilepsy & Behavior**, v. 5, p. 168–174, 2004).

Somado-se a isso, estudos mostraram uma elevação das concentrações de Ca^{++} nas plaquetas e linfócitos de pacientes depressivos e

bipolares, o que sugere que o aumento das concentrações intracelulares desse íon pode participar da fisiopatologia dos transtornos afetivos. Esse achado foi fortalecido pela descoberta de que alguns antidepressivos tricíclicos provocam um bloqueio nos canais de Ca^{++} , indicando que o referido mecanismo pode contribuir para os seus efeitos terapêuticos (GRUNZE, H.; WALDEN, J.; WOLF, R.; BERGER, M. Combined treatment with lithium and nimodipina in a bipolar i manic syndrome. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 20, p 419-426, 1996). Nesse sentido, a nimodipina mostrou efeito antidepressivo em ensaios realizados em animais, indício que o vasodilatador pode ser usado no tratamento dessa patologia. (KATAGIR, H.; KAGAYA, A.; NAKAE, S.; MORINOBU, S.; YAMAWAKI S. Modulation of serotonin receptor function in rats after repeated treatment with dexamethasone and L-type calcium channel antagonist nimodipina. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 25, p. 1269-1281, 2001).

15 Todavia, a administração oral da nimodipina é limitada pela baixa solubilidade aquosa da molécula (2,30 $\mu\text{g/mL}$) e alto metabolismo de primeira passagem, o que resulta em uma biodisponibilidade diminuída (aproximadamente 13%). Por chegar em quantidades reduzidas na circulação, este medicamento deve ser aplicado em doses elevadas e isso provoca inúmeros efeitos colaterais. 20 Uma alternativa à administração oral seria a aplicação endovenosa de nimodipina, no entanto como o fármaco não é solúvel em água, ele deveria ser solubilizado em etanol e injeções do álcool provocam irritações nos vasos sanguíneos, inviabilizando a técnica (YU, J.; HE, H.B.; TANG, X. Formulation and evaluation of nimodipine-loaded lipid microspheres. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 25 58, p. 1429-1435, 2006). Esse problema pode ser solucionado pela utilização de carreadores farmacêuticos de escala nanométrica.

30 Pesquisas indicaram que nanossistemas são ferramentas úteis para melhorar o perfil farmacocinético de medicamentos que, devido a uma solubilidade aquosa reduzida, baixa biodisponibilidade e alta toxicidade tiveram a sua aplicabilidade farmacêutica limitada. O uso da nanotecnologia possibilita a

proteção do medicamento contra a degradação extracelular, melhora a seletividade em relação ao sítio alvo, reduz a frequência de administração e a duração do tratamento. Além disso, a liberação controlada do fármaco aumenta a sua biodisponibilidade e diminui a sua toxicidade, dessa forma durante a terapêutica são utilizadas doses menores, resultando na diminuição do aparecimento de efeitos colaterais. (BATISTA, C.M.; DE CARVALHO, C.M.B.; MAGALHÃES, N.S.S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, p. 167- 179, 2007).

Lipossomas são estruturas compostas por uma ou mais bicamadas concêntricas de fosfolípídeos organizadas em torno de um compartimento aquoso interno. Podem desempenhar a função de carreadores de fármacos, biomoléculas ou agentes de diagnóstico. Formulações lipossomais têm mostrado a capacidade de melhorar a farmacocinética e farmacodinâmica das moléculas encapsuladas, uma vez que essas formulações podem induzir a rápida absorção e retenção do fármaco no tecido-alvo (CAVALCANTI, I.M.F.; MENDONÇA, E.A.M.; LIRA, M.; C.B.; HONORATO, S.B.; CAMARA, C.A.; AMORIM, R.V.S.; MENDES FILHO, J.; RABELLO, M.M; HERNANDES, M.Z.; AYALA, A.P.; SANTOS-MAGALHÃES, N.S. The encapsulation of b-lapachone in 2-hydroxypropyl-b-cyclodextrin inclusion complex into liposomes: A physicochemical evaluation and molecular modeling approach. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2011- In press.)

Esses nanossistemas são produzidos utilizando fosfolípídeos (de origem sintética ou natural), esteróis e um antioxidante. Os lipídeos mais aplicados nessas formulações são os que apresentam uma forma cilíndrica como as fosfatidilcolinas, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol e esfingomiélin, que devido a sua conformação, tendem a formar uma bicamada estável em solução aquosa. As fosfatidilcolinas são as mais empregadas, já que apresentam grande estabilidade frente a variações de pH ou da concentração de sal no meio interno (BATISTA, C.M.; DE CARVALHO, C.M.B.; MAGALHÃES, N.S.S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências**

Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 43, p. 167-179, 2007).

Eles podem ser preparados aplicando-se inúmeros processos: agitação, sonicação, extrusão, liofilização, congelamento e descongelamento, evaporação em fase reversa, entre outros. Os diâmetros dessas vesículas lipídicas podem variar entre 400 e 3500 nm, dependendo do modo de preparo. Como foi dito anteriormente, elas podem conter uma única bicamada lipídica ou bicamadas múltiplas em torno do compartimento aquoso interno, sendo classificadas como uni e multilamelar. Também podem ser classificadas como pequenas ou grandes, assim temos os lipossomas multilamelares, os lipossomas unilamelares pequenos e grandes (MACHADO, L.C.; GNOATTO, S.A.; KLÜPPEL, M.L.W. Lipossomas aplicados em farmacologia: Uma revisão da literatura. **Estudos de Biologia**, v. 29, p. 215-224, 2004).

A busca de anterioridade realizada nas bases de patentes dos *sites* do Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) e do Escritório Norte-americano de Marcas e Patentes (*United States Patent and Trademark Office* - USPTO) não mostrou nenhuma patente envolvendo lipossomas e nimodipina. Já a pesquisa realizada no *site* do Escritório de Patentes Europeu (Espacenet) mostrou duas patentes: a primeira referente a produção de proteolipossomas (JIANPING, L.; LU, Q. Self-assembling proteoliposome soft capsule and preparation method thereof. CN101780056 (A) – 2010-07-21), uma classe de lipossomas diferente da utilizada no experimento aqui descrito, e outra que protege uma metodologia de produção distinta da realizada nos testes detalhados nessa patente [HANSUUYURUGEN, H.; PEETAA, Z.; MATEIASU, H.; PEETAA, K. Injectable liposome medicine preparation. JP8081361 (A) – 1996-03-26).

Sumário da Invenção

Na presente patente foram demonstrados os efeitos pré-clínicos da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina em modelos experimentais de ansiedade, depressão e convulsão. Este composto foi produzido no Laboratório de Imunopatologia Keizo-Asami (LIKA) na Universidade Federal de

Pernambuco. A avaliação revelou seu potencial uso como agente ansiolítico, antidepressivo e anticonvulsivante, além de representar um protótipo para o desenvolvimento de novos fármacos dotados de ação no sistema nervoso central.

5 Dados da Organização Mundial de Saúde indicam que mais de 450 milhões de pessoas são acometidas por algum tipo de desordem que envolva o sistema nervoso central. Dentre as doenças observadas, a ocorrência dos estados de ansiedade, depressão e quadros de epilepsia vem se mostrando crescentes. Esse fato é alarmante, uma vez que esses distúrbios comportamentais, além de prejudicar a qualidade de vida do indivíduo afetado, 10 podem ser incapacitantes (SILVA, M.I.G.; AQUINO NETO, M.R.; TEIXEIRA NETO, P.F.; MOURA, B.A.; DO AMARAL, J.F.; DE SOUSA, D.P.; VASCONCELOS, S.M.M.; DE SOUSA, F.C.F. Central nervous system activity of acute administration of isopulegol in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 88, p. 141–147, 2007).

15 Para combater essas doenças, a presente patente, apresenta uma opção inovadora: a formulação lipossomal convencional contendo nimodipina (LCNa) . Essa formulação, ainda não é comercializada pelas indústrias farmacêuticas, possui comprovada ação contra ansiedade, depressão e convulsão.

Descrição detalhada da invenção

20 A metodologia usada para preparação dos lipossomas contendo nimodipina (LCNa) foi à baseada na formação de um filme fino lipídico obtido por evaporação em fase reversa. Assim, a produção dos referidos nanossistemas foi composta por três fases consecutivas: 1. Solubilização de uma mistura de fosfatidilcolina de soja e colesterol (8:2) e nimodipina por um solvente orgânico 25 constituído de clorofórmio e metanol (3:1), seguida da rotaevaporação da solução para a obtenção do filme fino lipídico; 2. Hidratação do filme de lipídeos com tampão fosfato (pH 7,4); 3. Sonicação da suspensão coloidal formada para a obtenção de lipossomas small unilamellar vesicle (SUV). A caracterização foi efetuada através de técnicas específicas de controle de qualidade para 30 determinação dos parâmetros físico-químicos, quando a formulação apresentou

tamanho de partícula: $121,93 \pm 0,60$ nm; índice de polidispersão: $0,297 \pm 0,02$; potencial zeta: $-5,32 \pm 1,29$; pH: 7.3; rendimento e taxa de encapsulação do fármaco de 100%.

O objetivo da presente patente é proteger a formulação (LCNa) e as metodologias usadas na produção dos lipossomas convencionais contendo nimodipina direcionados ao tratamento da ansiedade e depressão e convulsão. As atividades no SNC da formulação lipossomal em questão foram descobertas a partir de ensaios experimentais com camundongos Swiss adultos machos com 2 meses de idade e peso variando entre 25 e 30 g.

A aplicação biológica dos lipossomas contendo nimodipina (LCNa) foi comprovada experimentalmente por meio das seguintes etapas:

a) Avaliação da toxicidade aguda de LCNa

Durante o período de 14 dias de tratamento dos camundongos com a formulação LCNa não foram observados sinais clínicos de toxicidade aguda e nenhuma morte foi registrada entre os grupos tratados com as doses que variam de 0,1 a 1000 mg/kg. Nesses grupos também não foi detectada alteração na produção de excretas, no consumo de água e ração, bem como na massa corpórea dos animais. Continuando a avaliação da toxicidade foram mensurados os parâmetros bioquímicos e hematológicos dos camundongos, os quais permaneceram normais após 24 horas e 14 dias de tratamento de forma aguda com a formulação LCNa. Na análise morfológica macroscópica dos órgãos dos animais após os períodos de observação também não foi vista nenhuma alteração significativa, sugerindo que LCNa pode ser usada de forma segura.

b) Avaliação histopatológica cerebral de LCNa

Após período de 14 dias de tratamento foram removidos os cérebros de 08 camundongos de cada grupo tratados com as doses de 0,1, 1 e 10 mg/kg da formulação LCNa. Foi realizada a análise macroscópica, onde não foi detectada nenhuma alteração morfológica. Posteriormente foram realizadas análises histopatológicas de áreas cerebrais dos cérebros fixados em formol a 10% e corados com hematoxilina e eosina, onde não foram observadas

mudanças nas regiões analisadas (hipocampo, corpo estriado, cerebelo, córtex frontal, entre outros) após 14 dias de observação depois do tratamento de forma aguda com a formulação. Na análise histopatológica também não foi vista nenhuma lesão cerebral semelhante às observadas nos animais convulsivos que comprometem a função neuronal.

c) Avaliação de LCNa na terapia da convulsão

A epilepsia é uma doença crônica que afeta o SNC e apresenta várias etiologias. É caracterizada por crises recorrentes originadas por descargas excessivas dos neurônios cerebrais que resultam em alterações persistentes do funcionamento cerebral normal e do estado cognitivo (NASCIMENTO, V.S.; D'ALVA, M.S.; OLIVEIRA, A.A.; FREITAS, R.M.; VASCONCELOS, S.M.M.; SOUSA, F.C.F; FONTELES, M.M.F. Antioxidant effect of nimodipine in young rats after pilocarpine-induced seizures. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 82, p. 11-16, 2005). O distúrbio responde ao tratamento em cerca de 70% do tempo, no entanto, nem todas as pessoas afetadas têm acesso ao tratamento adequado e por isso a busca por terapias eficazes e mais acessíveis é necessária (ADEYEMI, O.O.; AKINDELE, A.J.; YEMITAN, O.K.; AIGIBE, F.R.; FAGBO, F.I. Anticonvulsant, anxiolytic and sedative activities of the aqueous root extract of *Securidaca longepedunculata* Fresen. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, p. 191-195, 2010).

Desse modo, a comprovação de atividade anticonvulsivante de LCNa vem trazer a possibilidade de desenvolvimento futuro de um medicamento que permita o tratamento mais efetivo e com menos efeitos colaterais que as terapias anticonvulsivantes atualmente usadas, uma vez que os tratamentos atuais apresentam como principais desvantagens a dependência química e física, bem como o processo de refratariedade que muitos pacientes apresentam quando fazem uso dos fármacos tradicionalmente utilizados na clínica.

O efeito anticonvulsivante da formulação foi determinado através do experimento que utiliza o modelo de convulsão induzido por pilocarpina. Os animais de todos os grupos foram observados durante 24 h após o tratamento

para a determinação da presença de sinais colinérgicos periféricos, movimentos estereotipados, tremores, crises convulsivas, estado de mal epilético e taxa de mortalidade, bem como foram determinadas a latência para instalação da primeira convulsão e a latência para instalação do mal epilético.

5 Nenhum dos animais do grupo controle apresentou alterações comportamentais características do processo convulsivo durante o período de observação. Por sua vez, todos os camundongos do grupo pilocarpina demonstraram a presença de sinais colinérgicos periféricos, movimentos estereotipados, tremores, crises convulsivas e estado de mal epilético, bem
10 como nenhum deles sobreviveu ao período de observação. Já os grupos pré-tratados com a formulação LCNa, que 30 min depois receberam pilocarpina apresentaram em proporções menores os sinais colinérgicos periféricos, os movimentos estereotipados e os tremores que são característicos do processo convulsivo de forma inversamente proporcionais à dose da formulação
15 administrada, o que sugere um caráter dose-dependente de LCNa. Dos grupos pré-tratados por via intraperitoneal com as três doses (0,1, 1 e 10 mg/kg) de LCNa nenhum dos animais apresentou crises convulsivas ou entrou em estado de mal epilético, demonstrando efeitos anticonvulsivantes da formulação. Por fim, os camundongos que receberam somente LCNa não apresentaram nenhuma
20 alteração comportamental característica do processo convulsivo durante 24 horas de observação.

d) Avaliação da atividade da enzima acetilcolinesterase.

Na literatura científica é crescente a busca de novos inibidores da acetilcolinesterase. A atividade enzimática de acetilcolinesterase no hipocampo
25 de camundongos pré-tratados com a formulação LCNa, que 30 min depois receberam pilocarpina foi medida através de métodos espectrofotométricos e os resultados comparados aos valores obtidos do grupo controle e ao grupo tratado com pilocarpina. A formulação LCNa causou um aumento da atividade da enzima acetilcolinesterase *in vivo*, que justifica o seu efeito anticonvulsivante, bem como
30 seu emprego no tratamento de outras doenças neurodegenerativas.

e) Avaliação de LCNa na terapia da depressão

A depressão é um distúrbio mental com alto grau de sofrimento psíquico. Sabe-se que a doença envolve inúmeros aspectos clínicos, etiopatogênicos e de terapia e que, se não tratada precocemente e de forma adequada, pode levar à incapacitação do portador ou até mesmo à morte por suicídio. Além da tristeza sem motivo aparente, os sintomas mais comuns na patologia são irritabilidade, desânimo, retraimento social, baixa auto-estima, humor disfórico, tendência autodepreciativa, alteração do sono e do apetite, ideação paranóide e pensamento recorrente de suicídio. As causas da doença ainda não foram bem elucidadas, mas acredita-se que elas possam envolver uma predisposição genética e influências do meio, como morte de um parente ou perda do emprego (STELLA, F.; GOBBI, S.; CORAZZA, D. I.; COSTA, J.R.L. Depressão no Idoso: Diagnóstico, Tratamento e Benefícios da Atividade Física. *Revista Motriz*, v. 18, p. 91-98, 2002].

Com a doença em foco, o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas para o tratamento torna-se alvo de inúmeras pesquisas e a comprovação do efeito antidepressivo de LCNa indica a possibilidade do surgimento de uma terapia mais efetiva para esse transtorno. O efeito antidepressivo de LCNa foi determinado através de dois experimentos clássicos usados no estudo da depressão: o teste do nado forçado e o teste de suspensão pela cauda.

A realização dos dois ensaios, que usam o aumento do tempo de imobilidade dos animais tratados como indicativo de depressão e a redução desse tempo como indício de efeito antidepressivo do composto testado, mostrou que LCNa é uma formulação promissora na terapia da patologia. Os camundongos que receberam LCNa permaneceram significativa mais tempo em movimento que os animais tratados com a solução salina (grupo controle) e com imipramina e paroxetina (fármacos antidepressivos usados como controle positivo).

f) Avaliação de LCNa na terapia da ansiedade

A ansiedade é uma enfermidade do SNC que contribui ativamente para o surgimento de outras patologias no indivíduo acometido. O transtorno se apresenta em diferentes formas, no entanto é provável que todas elas dependam de um mesmo número de sinapses comuns (HAN, H.; MA, Y.; EUN, J.E.; LI, R.; HONG J.; LEE, M.; OH, K. Anxiolytic-like effects of sanjoinine A isolated from Zizyphi Spinosi Semen: Possible involvement of GABAergic transmission. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 92, p. 206-213, 2009). O tratamento farmacológico da ansiedade consiste no uso dos ansiolíticos benzodiazepínicos, buspirona e medicamentos antidepressivos. Apesar de esses fármacos mostrarem grande eficácia, a sua administração tem alguns inconvenientes provocados por uma vasta gama de efeitos colaterais. Os mais comuns são amnésia, indução de dependência e sedação (RAUPP, I.M.; SERENIKI, A.; VIRTUOSO, S.; GHISLANDI, C.; CAVALCANTI, E.; SILVA, E.L.; TREBIEN, H.A.; MIGUEL, O.G.; ANDREATINI R. Anxiolytic-like effect of chronic treatment with *Erythrina velutina* extract in the elevated plus-maze test. **Journal Ethnopharmacol**, v. 118, p. 295-299, 2008).

O efeito ansiolítico de LCNa foi determinado através de dois testes: o labirinto em cruz elevado e teste do claro-escuro. O primeiro é realizado em um equipamento formado por quatro braços elevados e opostos, onde dois braços possuem paredes (braços fechados) e dois braços não possuem (braços abertos). Esse ensaio se baseia no conflito gerado pela tendência natural dos roedores de explorar ambientes novos e evitar situações potencialmente perigosas, assim se um animal apresentar uma diminuição no número de entradas e permanência nos braços abertos, diz-se que este animal está com altos níveis de ansiedade.

Já o segundo teste é realizado em uma caixa acrílica dividida em dois compartimentos, um iluminado e outro não. Ele se baseia na aversão natural dos camundongos a ambientes iluminados e permite avaliar os níveis de ansiedade pela frequência de transições e o tempo de permanência no compartimento claro. A latência de saída do compartimento escuro também pode ser utilizada como índice de ansiedade. Assim, se um animal apresentar diminuição no tempo de

permanência no ambiente iluminado diz-se que este animal está com altos níveis de ansiedade.

Assim, o efeito ansiolítico de LCNa foi determinado pelo aumento do número de entradas e tempo de permanência no braço aberto e pelo aumento no tempo de permanência no campo claro dos animais tratados com a formulação, quando comparados com os camundongos tratados com veículo (grupo controle negativo) e diazepam (grupo controle positivo), sugerindo um potencial efeito ansiolítico.

g) Avaliação da atividade locomotora em camundongos.

Transtornos do humor e sono, bem como ansiedade são prevalentes em doenças psiquiátricas que são tratados com fármacos da classe dos benzodiazepínicos. Em nossos estudos sobre a avaliação da atividade locomotora em camundongos foi verificado que formulação LCNa causou aumento da atividade locomotora dos animais.

REIVINDICAÇÕES

1. **Processo de obtenção, uso e aplicações farmacêuticas da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e convulsão, caracterizado por um**
5 conjunto de técnicas usadas na produção da formulação lipossomal contendo nimodipina (LCNa), bem como os produtos farmacêuticos obtidos de LCNa usados para tratar ansiedade, depressão e convulsão.

2. **Processo de obtenção, uso e aplicações farmacêuticas da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao**
10 **tratamento da ansiedade e depressão e convulsão**, produto farmacêutico da reivindicação 1, **caracterizado por se apresentar na forma seca, semi-sólida e/ou líquida.**

3. **Processo de obtenção da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e**
15 **convulsão**, produto farmacêutico das Reivindicações 1 e 2, **caracterizado por ser obtido utilizando fosfolipídeos (de origem sintética ou natural), esteróis e antioxidantes e solventes (orgânicos ou inorgânicos) ou solução, independente das proporções entre os solventes.**

4. **Processo de obtenção da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e**
20 **convulsão**, produto farmacêutico das Reivindicações 1, 2 e 3 **caracterizado por ser produzido utilizando fosfatidilcolina de soja e colesterol (8:2), os solventes clorofórmio e metanol (3:1) e nimodipina para a obtenção de uma preparação lipossomal com concentração de fosfolipídeos de 117,6 mM e concentração de**
25 **fármaco de 1,0 mg/ml.**

5. **Processo de obtenção da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e**
convulsão, produto farmacêutico das Reivindicações 1, 2, 3 e 4 **caracterizado por ter sido obtido por meio de qualquer técnica e/ou processo viável, com ou**
30 **sem aquecimento.**

6. **Processo de obtenção da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e**

convulsão, produto farmacêutico das Reivindicações 1, 2, 3, 4 e 5 **caracterizado por** ter sido obtido por meio da formação de um filme fino lipídico produzido por evaporação em fase reversa seguido do processo de sonicação.

5 **7. Uso e aplicações farmacêuticas da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e convulsão**, produto farmacêutico da Reivindicação 2, independente do percentual de moléculas químicas ativas identificadas por unidade de lipossoma (mililitro ou grama), **caracterizado por** ser usado na terapia da ansiedade, depressão e convulsão.

10 **8. Processo de obtenção da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e convulsão**, produto farmacêutico da Reivindicação 2, **caracterizado por** se apresentar na forma seca, obtida por meio de qualquer processo viável de secagem da formulação, possuindo ou não qualquer excipiente sólido como
15 carreador.

9. Processo de obtenção, uso e aplicações farmacêuticas da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e convulsão, produto farmacêutico da Reivindicação 1, **caracterizado por** ser veiculado em qualquer apresentação
20 farmacêutica, esteja esta na forma de produtos farmacêuticos sólidos, semi-sólidos e/ou líquidos, estéreis ou não, independente da via de administração, posologia, concentração do lipossoma na formulação e forma de liberação dos ativos.

10. Uso e aplicações farmacêuticas da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e convulsão, produto farmacêutico da Reivindicação 9, **caracterizado por** apresentar a ação farmacológica de interesse quando isolado ou quando associado a qualquer outro fármaco (sintético, semissintético, fitofármaco, mineral, biológico, biotecnológico ou fitoterápico) que potencialize a
25 ação ansiolítica, antidepressiva e anticonvulsivante do mesmo.
30

11. **Uso e aplicações farmacêuticas da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e convulsão**, produto farmacêutico da Reivindicação 9, caracterizado por apresentar aplicabilidade veterinária e/ou humana.

5 12. **Uso e aplicações farmacêuticas da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e convulsão**, produto farmacêutico da Reivindicação 9, caracterizado por poder ser destinado a administração pediátrica, adulta ou geriátrica, quando de uso humano.

10 13. **Uso e aplicações farmacêuticas da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e convulsão**, produto farmacêutico da Reivindicação 1, caracterizado por produzir diminuição da atividade da enzima acetilcolinesterase.

15 14. **Uso e aplicações farmacêuticas da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e convulsão**, produto farmacêutico da Reivindicação 1 caracterizado por apresentar a finalidade de promover neuroproteção.

20 15. **Uso e aplicações farmacêuticas da formulação lipossomal convencional contendo nimodipina direcionada ao tratamento da ansiedade e depressão e convulsão**, produto farmacêutico da Reivindicação 10, caracterizado por ser utilizado na produção de medicamentos aplicados no tratamento da ansiedade, depressão e convulsões, bem como de outras doenças onde a atividade no Sistema Nervoso Central responda pela fisiopatologia
25 inerente.

**“PROCESSO DE OBTENÇÃO, USO E APLICAÇÕES FARMACÊUTICAS DA
FORMULAÇÃO LIPOSSOMAL CONVENCIONAL CONTENDO NIMODIPINA
DIRECIONADA AO TRATAMENTO DA ANSIEDADE E DEPRESSÃO E
CONVULSÃO”.**

5 A presente invenção diz respeito a produção, uso e aplicações
farmacêuticas da preparação lipossomal contendo nimodipina (LCNa),
vasodilatador pertencente ao grupo das diidropiridinas, na terapia de doenças
do Sistema Nervoso Central (SNC). Mais especificamente, a presente invenção
refere-se às metodologias usadas no preparo e ao uso dos lipossomas na
10 produção de formulações farmacêuticas sólidas, semi-sólidas e/ou líquidas,
estéreis ou não, independente da via de administração, posologia,
concentração dos lipossomas na formulação e forma de liberação dos ativos.
Além disso, a presente invenção diz respeito ao potencial antidepressivo,
ansiolítico e anticonvulsivante da preparação e a sua utilização na formulação
15 farmacêutica de produto(s) para a prevenção e/ou tratamento de doenças
neurodegenerativas, principalmente ansiedade, depressão e convulsão.