



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

(21) BR 10 2012 029382-0 A2

(22) Data de Depósito: 19/11/2012
(43) Data da Publicação: 23/09/2014
(RPI 2281)



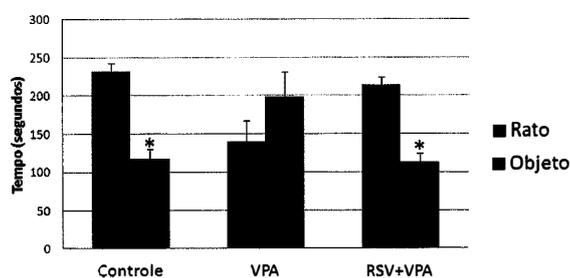
(51) Int.Cl.:
A61K 31/05
A61P 25/00

(54) **Título:** USO DE PELO MENOS UM POLIFENOL DA FAMÍLIA DOS ESTILBENOS E MÉTODO PARA PREVENÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE AUTISMO EM UM MAMÍFERO DESCENDENTE

(73) **Titular(es):** Universidade Federal do Rio Grande do Sul

(72) **Inventor(es):** Carmen Juracy Silveira Gottfried, Gabriela Mueller de Melo, Rudimar dos Santos Riesgo, Tamara da Silva Vaccaro, Victorio Bambini Junior

(57) **Resumo:** USO DE PELO MENOS UM POLIFENOL DA FAMÍLIA DOS ESTILBENOS E MÉTODO PARA PREVENÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE AUTISMO EM UM MAMÍFERO DESCENTE. A presente invenção descreve o uso de pelo menos um polifenol da família dos estilbenos, na preparação de um medicamento para a prevenção do autismo em um mamífero descendente, prevenção esta que consiste em administrar no mamífero genitor, durante a gestação do mamífero descendente, uma quantidade terapêuticamente eficaz de um polifenol da família dos estilbenos.



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

USO DE PELO MENOS UM POLIFENOL DA FAMÍLIA DOS ESTILBENOS E MÉTODO PARA PREVENÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE AUTISMO EM UM MAMÍFERO DESCENDENTE

5

Campo da Invenção

A presente invenção se situa no campo de métodos de prevenção de sintomas associados ao autismo em mamíferos, particularmente, composições farmacêuticas e seu uso na preparação.

10

Antecedentes da Invenção

O autismo é um transtorno comportamental de etiologia ainda desconhecida, que se associa a uma alteração no processo de desenvolvimento infantil. Esta desordem é enquadrada no Manual Diagnóstico e Estatístico dos Distúrbios Mentais V revisado (DSMV-TR), como transtorno global do desenvolvimento (TGD), também conhecido como transtorno invasivo do desenvolvimento (TID). O espectro do autismo compreende o autismo clássico, com maior comprometimento intelectual, o autismo não especificado e a síndrome de Asperger.

20 Algumas características como prejuízo na interação social, severos distúrbios de linguagem, reduzida comunicação e uma preocupação obsessiva pelo que é imutável, podem ser observadas em crianças com TID. O indivíduo adulto com autismo apresenta problemas de interação social, mas em alguns casos, relacionados com o autismo leve, pode se desenvolver
25 profissionalmente se encontrar um entorno favorável.

Há estudos investigando fatores genéticos relacionados, com mais de 100 genes já descritos. O autismo não tem tratamento específico, mas sim, apenas para sintomas associados, como distúrbios do sono e agressividade. O diagnóstico do autismo deve ser o mais precoce possível, no entanto é
30 realizado normalmente após os três anos de idade, quando já se podem

observar características de prejuízo comportamental. Um agravante para o diagnóstico tardio é a falta de marcadores clínicos.

O indivíduo com autismo sofre uma alta dificuldade no tratamento dos sintomas associados, acarretando um alto custo econômico, social e familiar.

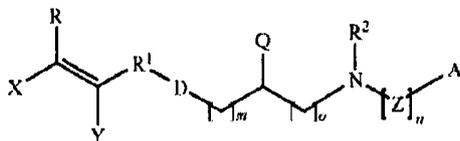
5 Portanto a presente invenção envolve profilaxia do autismo, uma vez que se trata de uma intervenção durante períodos iniciais da gestação, e, portanto, visa a prevenção, com caráter inovador e de grande relevância social.

A busca na literatura científica e patentária apontaram alguns documentos relevantes para a presente invenção, os quais são descritos a
10 seguir.

O documento US20110201565A1 revela um método para tratar desordens auto-imunes selecionadas dos grupos do autismo, da esquizofrenia e da diabetes por meio da administração via oral em dose terapêutica efetiva de um ou mais dos seguintes polifenóis: luteolina, diosmina, diosmetina, seus
15 análogos e derivados. O mecanismo de ação desse tratamento ocorre pela inibição da fosforilação da STAT3 induzida pela IL-6. Aumentos acentuados na produção de IL-6 acontecem em condições inflamatórias no cérebro e a IL-6 sinaliza a tradução e ativação da STAT3, além de ativar a JAK A via JAK2/STAT3 induzida por IL-6 atua na proliferação celular, fenômeno que
20 ocorre em nível excessivo de uma proporção significativa de crianças com autismo. Foi constatado que camundongos tratados com diosmina demonstraram redução do fenótipo autista. A análise do homogenato de cérebro por Western Blot da prole adulta, cuja mãe foi tratada com diosmina e S31-201 (inibidor de STAT3), além de IL-6, demonstrou uma redução da
25 fosforilação da STAT3. Esse documento se distancia da presente invenção pelo uso de polifenóis de grupos diferentes, enquanto o documento US20110201565A1 se refere a flavonóides, a presente invenção trata de polifenóis da família dos estilbenos.

O documento US20100298402A1 revela a propriedade de estilbenos
30 inibirem a STAT3. Descreve um composto (estrutura abaixo) e seus derivados, análogos, formas tautoméricas, estereoisômeros, polimorfos, solvatos,

intermediários, sais, composições farmacêuticas, metabólitos e pró-fármacos, além de seu processo de síntese e uma composição farmacêutica.



Esse composto pode ser utilizado para profilaxia e tratamento de
 5 doenças autoimunes, desordens neurológicas e doenças inflamatórias. Atua
 inibindo a fosforilação da STAT3, mediado pela IL-6. Além disso, o documento
 descreve no estado da técnica a propriedade do resveratrol inibir a sinalização
 da STAT3. O documento US20100298402A1 se distancia da presente
 invenção, pois esse não apresenta nenhuma evidencia das moléculas da
 10 classe dos flavonóides poderem ser utilizadas no tratamento e/ou na prevenção
 de autismo, além de não demonstrar a possibilidade do tratamento durante o
 período de gestação.

Do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados
 documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção,
 15 de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva
 frente ao estado da técnica.

Sumário da Invenção

Dessa forma, a presente invenção vem propor uma medida profilática
 20 para o desenvolvimento do autismo, através do uso de pelo menos um polifenol
 da família dos estilbenos. Envolve a proposta de preparação de um
 medicamento para a prevenção do autismo em um mamífero descendente,
 prevenção esta que consiste em administrar no mamífero genitor, durante a
 gestação do mamífero descendente, uma quantidade terapeuticamente eficaz
 25 de um polifenol da família dos estilbenos.

Em um aspecto da presente invenção o dito polifenol da família dos
 estilbenos é o resveratrol.

Em um aspecto da presente invenção a dita administração no mamífero genitor é por via subcutânea, intramuscular ou por gavagem.

Em um aspecto da presente invenção a dita quantidade terapêuticamente eficaz de um polifenol da família dos estilbenos é entre 10 µg e 10 g por administração.

Em um aspecto da presente invenção o dito polifenol administrado está na concentração de 0,1 mg/kg de peso corpóreo a 100 mg/Kg de peso corpóreo.

Adicionalmente, a presente invenção apresenta um método para prevenção do desenvolvimento de autismo em um mamífero descendente, o dito método compreende administrar no mamífero genitor, durante a gestação do dito mamífero descendente, uma quantidade terapêuticamente eficaz de um polifenol da família dos estilbenos.

Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesse no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

Descrição das Figuras

A figura 1 apresenta um gráfico comparando o perfil exploratório social dos ratos descendentes, os quais as mães foram tratadas com ácido valpróico (VPA), sabidamente um indutor de autismo em humanos, e ácido valpróico e resveratrol, em comparação ao grupo controle (sem tratamento).

A figura 2 apresenta quatro gráficos de simulações computacionais da interação entre as moléculas de VPA e de resveratrol. A simulação denota o caráter efêmero das ligações entre VPA e resveratrol, deixando claro que o mecanismo de ação do resveratrol se dá através de alterações celulares e não do simples bloqueio da ação do VPA por, por exemplo, quelamento.

Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção revela o uso de pelo menos um polifenol da família dos estilbenos, na preparação de um medicamento para a prevenção do

autismo em um mamífero descendente, prevenção esta que consiste em administrar no mamífero genitor, durante a gestação do mamífero descendente, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um polifenol da família dos estilbenos.

5 A prevenção do autismo sugerida na presente invenção é através de um tratamento durante o período gestacional, período esse de risco para o desenvolvimento do autismo no feto. Inicialmente, esse método de tratamento descrito é indicado em casos de risco, como, por exemplo, quando o casal já possui um filho autista ou a grávida encontra-se sob tratamento com
10 anticonvulsivantes.

O presente método de tratamento é realizado na genitora durante o período de gestação e previne o desenvolvimento de características comportamentais prejudiciais do autismo no descendente.

15 Polifenol da família dos estilbenos:

Polifenóis são estruturas químicas caracterizadas por possuírem múltiplos fenóis, anéis aromáticos que possuem uma ou mais hidroxilas ligadas. Os polifenóis podem ser classificados em duas categorias, os flavonoides e os não flavonoides dentre os quais está família dos estilbenos. O
20 resveratrol sendo o estilbeno preferencial da presente invenção. Entretanto, técnicos no assunto poderão reconhecer que outras substâncias com estrutura similar ao do resveratrol poderão ser utilizadas com uma razoável expectativa de similaridade em seu efeito na prevenção do autismo.

25 Mamífero descendente:

Mamífero descendente é o paciente com autismo ou indivíduo que pode desenvolver o autismo. Esse não recebe o tratamento diretamente, mas sim a fêmea gestante dele.

30 Mamífero genitor:

Mamífero genitor é a fêmea antecessora do mamífero descendente. O

tratamento com o polifenol da família dos estilbenos é realizado como forma de prevenção do autismo e envolve a antecedente direta do possível paciente com autismo, durante sua gestação, ou seja, durante o período de formação e desenvolvimento do mamífero descendente. Dessa forma, o ser vivo que deve
5 receber o tratamento sugerido na presente invenção é a genitora, durante o período de gestação.

Quantidade terapeuticamente eficaz:

Dose do fármaco administrado em determinado intervalo de tempo
10 capaz de apresentar eficácia e depende do peso do indivíduo que receberá o tratamento.

Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo, sem limitar o escopo da mesma.
15

Exemplo 1.

Teste utilizando fêmeas de ratos Wistar prenhas foi realizado para comprovar a eficácia do tratamento.

As ratas foram divididas em quatro grupos:

- 20
- Controle: Expostas ao veículo da solução de polifenol, dimetilsulfóxido
 - PLF: Expostas a solução de polifenol
 - VPA: Expostas ao ácido valpróico, agente indutor de características do tipo autistas e ao veículo da solução de polifenol, dimetilsulfóxido.
 - PLF+VPA: Expostas a solução de polifenol e ácido valpróico.

25 A posologia de polifenol utilizada corresponde a até 10 mg/Kg de peso da rata. Esse foi utilizado na forma de solução injetável, diluído em dimetilsulfóxido, e administrado via subcutânea, por 5 a 21 dias. O ácido valpróico foi administrado entre os dias 9 e 14 de gestação.

30 No trigésimo dia pós-natal, os ratos da prole foram submetidos a diferentes testes comportamentais para avaliar características relacionadas ao autismo. O grupo VPA apresentou alterações sociais esperadas,

correlacionadas a comportamentos relacionados ao autismo. Já o grupo PLF+VPA não apresentou tais alterações.

Exemplo 2.

5 Foi realizado teste com fêmeas de ratos no período de gestação. O polifenol utilizado corresponde ao resveratrol. As ratas foram divididas em quatro grupos.

- Controle: Expostas ao veículo da solução de polifenol, dimetilsulfóxido

- PLF: Expostas a solução de polifenol

10 - VPA: Expostas ao ácido valpróico, agente indutor de características autistas e ao veículo da solução de polifenol, dimetilsulfóxido.

- PLF+VPA: Expostas a solução de polifenol e ácido valpróico.

O tratamento pré-natal com o resveratrol foi realizado nas ratas prenhe administrando doses de 0,5 a 5 mg/Kg de peso corpóreo durante os últimos 14 dias da gestação.

O tratamento com ácido valpróico, realizado para induzir características comportamentais, neuroquímicas e morfológicas correspondentes ao autismo, corresponde a exposição das ratas prenhe a 600 mg/Kg de peso corpóreo de ácido valpróico aos 12,5 dias de gestação.

20 A prole do grupo PLF+VPA não apresentou características comportamentais comparáveis ao autismo. Isso foi constatado pelo teste denominado labirinto de três câmaras, no qual o rato tem a tarefa de escolher entre explorar um objeto desconhecido ou um rato desconhecido. Os ratos do grupo VPA não demonstraram preferência, já os ratos do grupo PLF+VPA demonstraram preferências semelhantes ao grupo controle, explorando por mais tempo o rato desconhecido do que o objeto desconhecido. Esse resultado pode ser observado na figura 1. As barras cinza claro representam o tempo (em segundos) que cada grupo explorou o rato desconhecido. As barras cinza escuro representam o tempo (em segundos) que cada grupo explorou o objeto desconhecido. O grupo controle recebeu, durante a gestação, tratamento com o veículo do PLF. O asterisco representa diferença estatística dentre Objeto vs.

25

30

Rato, $p < 0,05$. Dessa forma, constatou-se a completa prevenção da característica comportamental observada relacionada ao autismo, por tratamento durante o período gestacional com PLF.

Além disso, foi demonstrado através da utilização de ferramentas de bioquímica quântica, que o efeito deve-se a benefícios fisiológicos e não evitando que a molécula indutora seja ativa. Simulações computacionais demonstraram baixa interação entre as moléculas que previnem com as moléculas que induzem os comportamentos do tipo autista em ratos (Figura 2).

O primeiro gráfico da figura 2 (MD 1 + MD 2) mostra a menor distância (em nanômetros) entre uma molécula de resveratrol (agente protetor) e uma molécula de ácido valpróico (agente indutor), em dois experimentos independentes, ao longo do tempo (em milissegundos). Os gráficos seguintes (MD1 RSV-VPA13, MD1 RSV-VPA16 e MD1 RSV-VPA27) representam as moléculas de RSV que mais se aproximaram (interagiram) com moléculas de VPA. Os experimentos demonstram o caráter transitório da interação entre as moléculas, não podendo, portanto, interagirem suficiente para anularem seus efeitos biológicos. Em todos os experimentos, foi utilizada uma concentração fictícia de 1 molécula de RSV para 27 de VPA, sendo essa uma concentração pelo menos 10x maior que a máxima encontrada em nossos experimentos.

Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidos no escopo das reivindicações anexas.

Reivindicações

1. Uso de pelo menos um polifenol da família dos estilbenos, **caracterizado** por ser na preparação de um medicamento para a prevenção do autismo em um mamífero descendente, prevenção esta que consiste em:
5 a) administrar no mamífero genitor, durante a gestação do mamífero descendente, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um polifenol da família dos estilbenos.
2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo
10 polifenol da família dos estilbenos ser o resveratrol.
3. Uso, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pela administração no mamífero progenitor ser por via subcutânea, intramuscular ou oral.
4. Uso, de acordo com as reivindicações 1 e 3, **caracterizado** pela
15 quantidade terapeuticamente eficaz de um polifenol estar entre 10 µg e 10 g por administração.
5. Uso, de acordo com as reivindicações 1, 3 e 4, **caracterizado** pelo polifenol administrado estar na concentração de 0,1 mg/kg de peso corpóreo a 100 mg/Kg de peso corpóreo.
- 20 6. Método para prevenção do desenvolvimento de autismo em um mamífero descendente, o dito método **caracterizado** por:
a) administrar no mamífero genitor, durante a gestação do dito mamífero descendente, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um polifenol da família dos estilbenos.

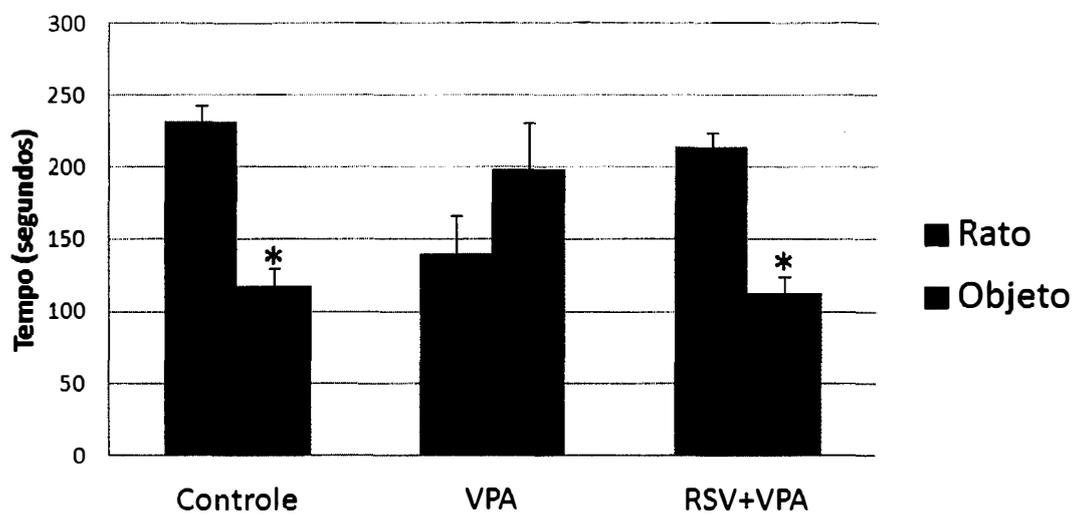
Figuras

Figura 1

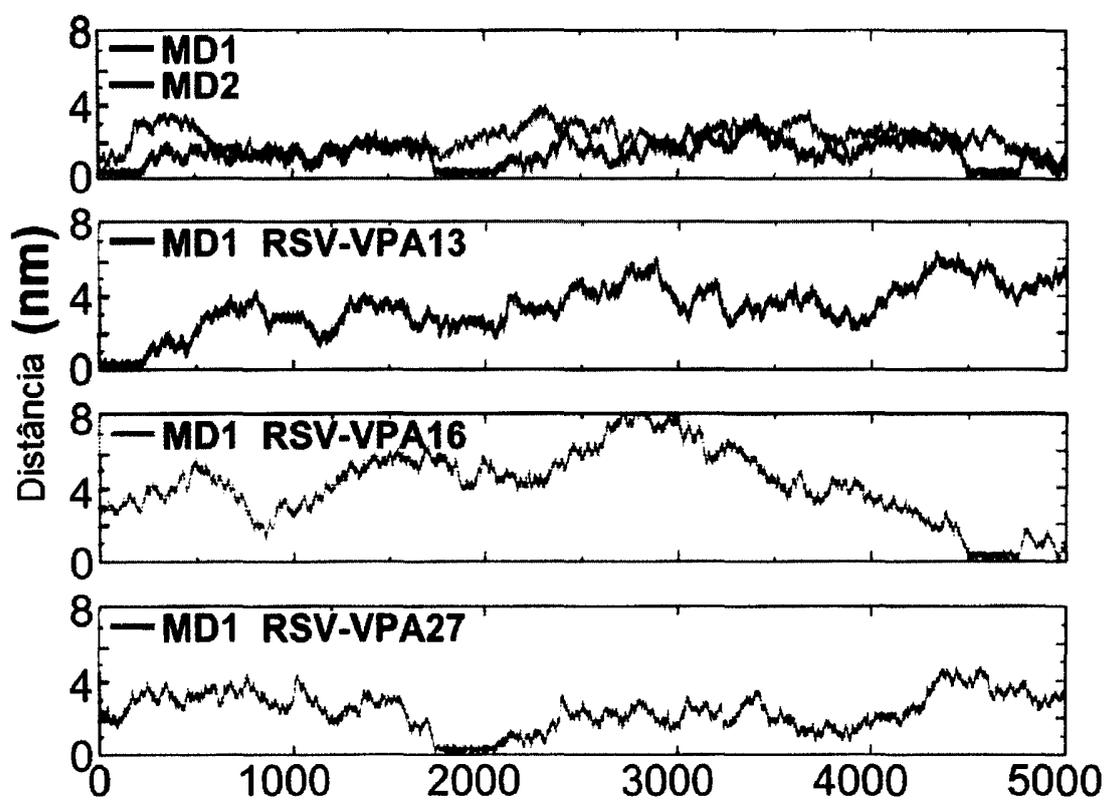


Figura 2

Resumo

**USO DE PELO MENOS UM POLIFENOL DA FAMÍLIA DOS ESTILBENOS E
MÉTODO PARA PREVENÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE AUTISMO EM UM
MAMÍFERO DESCENDENTE**

5

A presente invenção descreve o uso de pelo menos um polifenol da família dos estilbenos, na preparação de um medicamento para a prevenção do autismo em um mamífero descendente, prevenção esta que consiste em administrar no mamífero genitor, durante a gestação do mamífero descendente, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um polifenol da família dos estilbenos.

10