



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0211570-0 B1



(22) Data do Depósito: 30/07/2002

(45) Data de Concessão: 28/01/2020

(54) Título: USO DE 1'-[1,4-FENILENO-BIS-(METILENO)-BIS-1,4,8,11- TETRAZACICLOTETRADECANO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO NA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO PARA COLETAR CÉLULAS PROGENITORAS E/OU TRONCO

(51) Int.Cl.: A61K 31/33; A61K 31/555; A61P 7/00.

(30) Prioridade Unionista: 20/05/2002 US 60/382,155; 31/07/2001 US 60/309,196.

(73) Titular(es): GENZYME CORPORATION.

(72) Inventor(es): GARY J. BRIDGER; MICHAEL J. ABRAMS; GEOFFREY W. HENSON; RONALD TREVOR MACFARLAND; GARY B. CALANDRA; DAVID C. DALE; HAL E. BROXMEYER.

(86) Pedido PCT: PCT US2002024212 de 30/07/2002

(87) Publicação PCT: WO 2003/011277 de 13/02/2003

(85) Data do Início da Fase Nacional: 29/01/2004

(57) Resumo: "MÉTODOS PARA MOBILIZAR CÉLULAS PROGENITORAS/TRONCO". São descritos métodos para elevação de contagens celulares progenitoras e/ou tronco em animais, usando compostos que se ligam ao receptor de quimiocina CXCR4. Modalidades preferidas de tais compostos são de fórmula Z-ligante-Z39>(1) ou um sal farmaceuticamente aceitável deste, onde Z é uma poliamina cíclica contendo 9-32 membros no anel, dos quais 3-8 são átomos de nitrogênio, estes átomos de nitrogênio separados entre si por pelo menos 2 átomos de carbono e onde tal heterociclo pode, opcionalmente, conter heteroátomos adicionais além do nitrogênio e/ou podem ser fundidos a um sistema de anel adicional; ou Z é de fórmula (a) onde A compreende um sistema de anel monocíclico ou bicíclico fundido, contendo pelo menos um N e B é H ou uma porção orgânica de 1-20 átomos, Z39> pode ser incorporado em uma forma como definido em Z acima, ou alternativamente, pode ser de fórmula onde cada R é, independentemente, H ou C~ 1-6~ alquila linear, ramificado ou cíclico, n é 1 ou 2, e X é um anel aromático, incluindo anéis heteroaromáticos, ou é um mercaptan; "ligante" representa uma ligação, C~ 1-6~ alquileno, ou pode compreender arila, arila fundida, átomos de oxigênio contidos em uma cadeia alquileno, ou pode (...).

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"USO DE 1'-[1,4-FENILENO-BIS-(METILENO)-BIS-1,4,8,11- TETRAZACICLOTETRA-DECANO OU UM SAL FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO NA PREPARAÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO PARA COLETAR CÉLULAS PROGENITORAS E/OU TRONCO".**

Referência Cruzada a Pedidos Relacionados

Este pedido de patente reivindica prioridade sob 35 U.S.C.§ 119(e) ao pedido provisório U.S. Nº de Série 60/309.196 depositado em 31 de julho de 2001, e ao pedido provisório U.S. Nº de Série 60/382.155, depositado em 20 de maio de 2002. O conteúdo desses pedidos está ora incorporado ao presente, por referência.

Campo Técnico

A invenção refere-se ao campo da química terapêutica e medicinal. Mais particularmente, a invenção refere-se a métodos para mobilizar células progenitoras/tronco em indivíduos, por administração de algumas poliaminas.

Técnica Precedente

Células sangüíneas desempenham uma parte crucial na manutenção da saúde e viabilidade dos animais, incluindo os seres humanos. Células sangüíneas brancas incluem neutrófilos, macrófagos, eosinófilos e basófilos, mastócitos, bem como as células B e T do sistema imunológico. Células sangüíneas brancas são continuamente substituídas via sistema hematopoiético, pela ação dos fatores de estimulação de colônia (CSF) e de várias citocinas nas células-tronco e células progenitoras nos tecidos hematopoiéticos. As seqüências de nucleotídeo codificando uma série desses fatores de crescimento foram clonadas e seqüenciadas. Talvez os mais bem-conhecidos destes é o fator de estimulação de colônia de granulócito (G-CSF) que foi aprovado para uso na contra-ação dos efeitos negativos da quimioterapia, por estimulação de produção das células sangüíneas brancas e células progenitoras (mobilização da célula-tronco sangüínea periférica). Um debate dos efeitos hematopoiéticos deste fator pode ser visto, por exemplo, na Patente U.S. Nº 5.582.823, ora incorporada por referência.

Segue-se folha 1a

Vários outros fatores foram relatados para aumentar as células sangüíneas brancas e as células progenitoras em, tanto indivíduos humanos como animais. Esses agentes incluem fator estimulante de colônia granuló-

Segue-se folha 2

12/07/00

cito-macróforo (GM-CSF), Inteleucina-1 (IL-1), Interleucina-3 (IL-3), Interleucina-8 (IL-8), PIXY-321 (GM-CSF/IL-3, proteína de fusão), proteína inflamatória de macróforo, fator de célula-tronco, trombopoietina e oncogene relacionada ao crescimento, como agentes simples ou em combinação (Dale, D, et al., *Am. J. of Hematol.* (1998) 57:7-15; Rosenfeld, C. et al., *Bone Marrow Transplantation* (1997) 17:179-183; Pruijt, J. et al., *Cur. Op. in Hematol.* (1999) 6:152-158, Broxmeyer, H., et al, *Exp. Hematol.* (1995) 23:335-340; Broxmeyer et al., *Blood Cells, Molecules and Diseases* (1998) 24:14-30, Glaspy, J., et al. *Cancer Chemother. Pharmacol* (1996) 38(suppl), S53-S57, Vadhan-Raj, S. et al., *Ann, Intern. Med* (1997) 126:673-81, King, A., et. al., *Blood* (2001) 97:1534-1542, Glaspy, J. et al., *Blood* (1997) 90:2939-2951).

Embora fatores do crescimento endógenos sejam farmacologicamente eficazes, as desvantagens bem-conhecidas de empregar-se proteínas e peptídeos como farmacêuticos acentua a necessidade em se adicionar ao repertório de tais fatores de crescimento agentes que sejam moléculas pequenas. Em um outro aspecto, tais moléculas pequenas são desvantajosas sobre as proteínas e peptídeos onde a produção em grandes quantidades seja desejada.

Uma série de agentes antivirais de poliamina cíclica foram descritos em uma série de patentes e pedidos de patente U.S. durante os últimos anos. Essas patentes, Patente U.S. N^os. 5.021.409; 6.001.826; 5.583.131; 5.698.546; e 5.817.807 estão ora incorporadas a título de referência. Também estão incorporadas por referência as publicações PCT WO 00/02870 com base em um pedido depositado em 8 de julho de 1998 e WO 01/44229, com base no pedido depositado em 17 de dezembro de 1999, que descreve compostos adicionais. Essas publicações descrevem as características estruturais dos agente antivirais de poliamina cíclica.

As características estruturais de uma série de agentes antivirais de amina não-cíclica também estão descritos em uma série de pedidos U.S., agora publicados como publicações PCT. Essas publicações, WO 00/56729, com base no pedido depositado em 24 de março de 2000, WO 02/22600, com base nos pedidos depositados em 15 e 20 de setembro de 2000, WO

13

02/22599, com base nos pedidos depositados em 15 e 22 de setembro 2000, bem como WO 02/34745 publicado em 2 de maio de 2002, estão ora incorporados por referência em sua totalidade.

5 Além disso, métodos aperfeiçoados para preparação de alguns compostos de poliamina cíclica estão descritos nas patentes U.S. Nºs. 5.612.478, 5.756.728, 5.801.281, e 5.605.053 e publicação PCT WO 02/26721, com base no pedido depositado em 29 de setembro de 2000. A descrição desses documentos U.S. também está ora incorporada a título de referência em sua totalidade.

10 Descobriu-se, de antemão, e foi descrito na publicação PCT WO 02/58653, com base no pedido depositado em 1 de fevereiro de 2000, que alguns agentes antivirais de poliamina descritos nas publicações supramencionadas têm o efeito de aumentar a contagem de célula sangüínea branca. Foi agora descoberto que os agentes antivirais de poliamina descritos nas
15 publicações supramencionadas também têm o efeito de aumentar as células progenitoras e/ou células-tronco.

O desenvolvimento e maturação da célula sangüíneas é um processo complexo. Células maduras do sangue são derivadas de células precursoras hematopoéticas, células (progenitoras) e células-tronco presentes
20 em tecidos específicos hematopoéticos incluindo medula óssea. Dentro desses ambientes, as células hematopoéticas proliferam-se e diferenciam-se antes de ingressar na circulação. O receptor de CXCR4 e seu ligante natural fator -1 derivado da célula estromal (SDF-1), parece ser importante neste processo (para consulta ver Maekawa, T., et al., *Internal Med* (2000) 39:90-
25 100; Nagasawa, T., et al., *Int. J. Hematol.* (2000) 72:408-411). Isto é demonstrado pelos relatos de que CXCR4 ou SDF-1 aniquilam camundongos que apresentam defeitos hematopoéticos (Ma, Q., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci USA* (1998) 95:9448-9453; Tachibana, K., et al., *Nature* (1998) 393:591-594; Zou, Y-R., et al., *Nature* (1998) 393:595-599). Sabe-se ainda que célu-
30 las progenitoras CD34+ expressam CXCR4 e requisitam SDF-1 produzido por células estromais da medula óssea para quimioatração e incorporação (Peled, A., et al., *Science* (1999) 283:845-848) e que SDF-1 *in vitro* seja

quimiotático para, tanto células CD34+ (Aiuti, A., *et al.*, *J. Exp. Med* (1997) 185:111-120, Viardot, A., *et al.*, *Ann. Hematol.* (1998) 77:194-197) e para células progenitoras/tronco (Jo, D-Y. *et al.*, *J. Clin Invest.* (2000) 105:101-111). SDF-1 também é um importante quimioatrativo, sinalizando via o receptor CXCR4, para vários outros progenitores mais incumbidos e células sangüíneas maduras, incluindo linfócitos T e monócitos (Bleul, C., *et al.*, *J. Exp. Med.* (1996) 184:1101-1109), linfócitos pro- e pré-B (Fedyk, E. R., *et al.*, *J. Leukoc. Biol.* (1999) 66:667-673; Ma, Q., *et al.*, *Immunity* (1999) 10:463-471) e megacariócitos (Hodohara, K. *et al.*, *Blood* (2000) 95:769-775; Riviere, C., *et al.*, *Blood* (1999) 95:1511-1523; Majka, M. *et al.*, *Blood* (2000) 96:4142-4151, Gear, A., *et al.*, *Blood* (2001) 97:937-945, Abi-Younes, S., *et al.*, *Circ. Res* (2000) 86:131-138).

Assim em resumo, parece que SDF-1 é capaz de controlar o posicionamento e a diferenciação de células que tem receptores CXCR4, sejam essas células célula-tronco (ou seja, células que são CD34+) e/ou células progenitoras (que resultam na formação de tipos específicos de colônias em resposta a estímulos particulares, que podem ser CD34+ ou CD34-) ou células que são um pouco mais diferenciadas.

Recentemente, focalizou-se atenção considerável no número de células CD34+ mobilizadas no grupamento das células progenitoras sangüíneas periféricas usadas para transplante de célula-tronco autóloga. A população CD34+ é o componente que se pensa ser principalmente responsável pelo tempo de recuperação melhorado após quimioterapia e as células mais prováveis de serem responsáveis para incorporação a longo prazo e restauração da hematopoese (Croop, J. M., *et al.*, *Bone Marrow Transplantation* (2000) 26:1271-1279). O mecanismo pelo qual as células CD34+ reincorporam pode ser devido aos efeitos quimiotáticos de SDF-1 em células expressando CXCR4 (Voermans, C. *Blood*, 2001, 97, 799-804, Ponomaryov, T., *et al.*, *J. Clin Invest.* (2000) 106:1331-1339). Mais recentemente, células-tronco hematopoéticas adultas demonstraram ser capazes de restaurar tecido cardíaco danificado em camundongos (Jackson, K., *et al.*, *J. Clin Invest.* (2001) 107:1395-1402; Kocher, A., *et al.*, *Nature Med* (2001) 7:430-436).

Assim, o papel do receptor CXCR4 no direcionamento do posicionamento e diferenciação celular assumiu considerável significância.

A citação dos documentos acima não pretende admitir que qualquer dos precedentes seja pertinente à técnica anterior. Todas as declarações, seja no que concerne à data ou representação, seja ao conteúdo desses documentos, é baseada na informação disponível à requerente e não se constitui em qualquer admissão à irrepreensibilidade das datas ou conteúdo desses documentos. Além disso, todos os documentos referidos em todo o pedido estão ora incorporados a título de referência em sua totalidade.

10 Descrição da Invenção

A invenção refere-se a métodos de tratamento de indivíduos animais, em particular, à veterinária e aos indivíduos humanos, para melhorar o número de células progenitoras e/ou células-tronco. As células progenitoras e/ou tronco podem ser coletadas e usadas no transplante de célula.

15 Os métodos da invenção empregam poliaminas, incluindo aquelas descritas nas patentes e publicações de patente incorporadas acima por referência.

Em um aspecto, portanto, a invenção dirige-se a um método de elevar as células progenitoras e/ou células-tronco, em um indivíduo, cujo método compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade de um composto de fórmula (1), ou de uma composição farmacêutica do mesmo, eficaz em elevar os níveis de célula progenitora e/ou célula-tronco. Em uma modalidade, células progenitoras e/ou tronco de medula óssea são mobilizadas para reparo miocárdico.

20

Os métodos da invenção também incluem tratamento de populações celulares *ex vivo* com os compostos de fórmula (1) e introdução das populações tratadas em um indivíduo compatível. Os compostos de fórmula (1) podem ser usados sozinhos ou em combinação com outros compostos e composições, para melhorar a população de células-tronco e/ou células progenitoras no sangue periférico. Assim, pode resultar uma produção intensificada de células sangüíneas brancas na medula óssea.

25

30

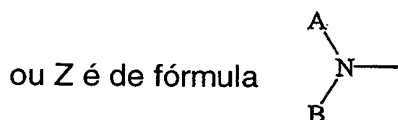
Em aspectos adicionais, a invenção dirige-se a composições farmacêuticas contendo o composto de fórmula (1) para uso na realização

de uma elevação de células progenitoras e/ou células-tronco em indivíduos animais.

Os compostos de fórmula (1) são de fórmula :

Z-ligante-Z' (1)

- 5 onde Z é uma poliamina cíclica contendo 9-32 membros no anel dos quais 2-8 são átomos de nitrogênio, ditos átomos de nitrogênio separados entre si por pelo menos 2 átomos de carbono, e em que dito heterociclo pode conter, opcionalmente, heteroátomos adicionais, além do nitrogênio, e/ou podem ser fundidos a um sistema de anel adicional,



- 10 onde A compreende um sistema de anel monocíclico ou bicíclico fundido, contendo pelo menos um N, e B é H ou uma porção orgânica de 1-20 átomos;

Z' pode ser incorporado em uma forma como definido por Z acima, ou alternativamente, pode ser de fórmula

- 15 $\text{-N(R)-(CR}_2\text{)}_n\text{-X}$

onde cada R é independentemente H ou C₁₋₆ alquila, reta ramificada ou cíclica, n é 1 ou 2, e

X é um anel aromático, incluindo anéis heteroaromáticos, ou é um mercaptano,

- 20 "ligante" representa uma ligação, (C₁₋₆) alquilenos, ou pode compreender arila, arila fundida, átomos de oxigênio contidos em uma cadeia alquilenos, ou pode conter grupos ceto ou átomos de nitrogênio ou enxofre.

As formas preferidas dos compostos da invenção são discutidas abaixo.

- 25 Breve Descrição dos Desenhos

A figura 1 mostra um gráfico de obtenção de progenitores mielóides, em resposta ao tratamento com 1,1'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano (AMD3100) em combinação com proteína inflamatória de macrófago, após administração de G-CSF.

Modos de Realização da Invenção

Os compostos úteis na invenção são de fórmula geral como na fórmula (1) acima. Algumas modalidades são preferidas; incluídas dentre estas, estão os compostos dados nas patentes U.S. incorporadas acima e de outros documentos de patente.

A poliamina cíclica e agentes antivirais de amina não-cíclica descritos nos documentos supramencionados, inibem a replicação de HIV através da inibição de CXCR4, o co-receptor necessário para fusão e entrada de cepas de HIV T-trópico, e também inibem a ligação e sinalização induzida pelo ligante natural, a quimiocina SDF-1. Embora não desejando estar preso a qualquer teoria, os compostos de fórmula (1) que inibem a ligação de SDF-1 a CXCR4 efetuam um aumento nas células-tronco e/ou progenitoras, em virtude dessa inibição. Aumentar as células-tronco e/ou progenitoras no sangue é de auxílio no tratamento para aliviar os efeitos de protocolos que afetam prejudicialmente a medula óssea, tal como os que resultam em leucopenia. Esses são efeitos colaterais conhecidos da quimioterapia e radioterapia. Os compostos de fórmula (1) também intensificam o sucesso do transplante de medula óssea, intensificam a cura de ferimentos e tratamento de queimaduras, e auxiliam na restauração de tecido de órgão danificado. Eles também combatem infecções bacterianas, que prevalecem na leucemia. Os compostos de fórmula (1) são usados para mobilizar e colher células CD34+ via aferese, com e sem combinações com outros fatores mobilizantes. As células coletadas são usadas em tratamento que necessitam transplante de célula-tronco.

Como aqui empregado, o termo "células progenitoras" refere-se a células que em resposta a alguns estímulos podem formar células diferenciadas hematopoéticas ou mielóides. A presença de células progenitoras pode ser avaliada pela capacidade das células em uma amostra, em formar unidades formadoras de colônia de vários tipos, incluindo por exemplo, CFU-GM (unidades formadoras de colônia, granulócito-macrófago); CFU-GEMM (unidades formadores de colônia, multipotencial); BFU-E (unidades formadoras de rompimento, eritróide); HPP-CFC (células formadoras de colônia com

potencial proliferativo alto); ou outros tipos de colônia diferenciadas, que podem ser obtidas em cultura usando protocolos conhecidos.

Como aqui empregado, células "tronco" são formas menos diferenciadas do que células progenitoras. Tipicamente, tais células são frequentemente positivas para CD34. Algumas células-tronco, contudo, não contém este marcador. Essas células CD34+ podem ser ensaiadas usando classificação de célula ativada por fluorescência (FACS) e assim sua presença pode ser avaliada em uma amostra usando esta técnica.

Em geral, células CD34+ estão presentes apenas em baixos níveis no sangue, mas estão presentes em grande número na medula óssea. Enquanto outros tipos de células, como células endoteliais e mastócitos, também podem apresentar este marcador, CD34 é considerado um índice da presença de célula-tronco.

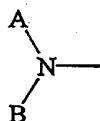
Em geral, nos compostos de fórmula (1), modalidades preferidas de Z e Z' são porções de poliamina cíclica, com de 9-24 C, que incluem 3-5 átomos de nitrogênio. Particularmente preferidos são 1,5,9,13-tetraazaciclohexadecano, 1,5,8,11,14-penta-azaciclohexadecano, 1,4,8,11-tetraazacicotetradecano, 1,5,9-triazacicotododecano, 1,4,7,10, tetra-azacicotododecano, e similares, incluindo tais poliaminas cíclicas que são fundidas a anéis aromáticos ou heteroaromáticos adicionais, e/ou contendo um heteroátomo diferente de nitrogênio incorporado ao anel. Modalidades onde a poliamina cíclica contém um sistema cíclico adicional fundido, ou um ou mais heteroátomos adicionais, estão descritos na Patente U.S. Nº 5.698.546 e WO 01/44229, ora incorporadas por referência ao presente. Também são preferidos:

3,7,11,17-tetraazabíciclo(13.3.1)heptadeca-1(17),13,15-trieno;
4,7,10,17-tetraazabíciclo(13.3.1)heptadeca-1(17),13,15-trieno;
1,4,7,10-tetraazacicotetradecano, 1,4,7-triazacicotetradecano; e
4,7,10-triazabíciclo(13.3.1)heptadeca-1(17),13,15-trieno.

Quando Z' é diferente de uma poliamina cíclica conforme indicado em Z, prefere-se as modalidades descritas na Patente U.S. 5.817.807, também ora incorporada por referência.

Formas preferidas onde

Z é de fórmula



onde A compreende um sistema de anel monocíclico ou bicíclico fundido, contendo pelo menos um N e B é H ou uma porção orgânica de 1-20 átomos estão descritas em WO 00/56729, WO 02/22600, WO 02/34745; e WO 02/22599 citadas acima, estando todas ora incorporadas por referência.

Formas preferidas da porção de ligante incluem aquelas onde o agente ligante é uma ligação, ou onde o ligante inclui uma porção aromática flanqueada por alquilenos, de preferência porções de metileno. Grupos de ligação preferidos incluem as formas metileno agrupadas de 1,3-fenileno, 2,6-piridina, 3,5-piridina, 2,5-tiofeno, 4,4'-(2,2'-bipirimidina), 2,9-(1,10-fenantrolina) e similares. Um ligante particularmente preferido é 1,4-fenileno-bis(metileno).

Modalidades particularmente preferidas do composto de fórmula (1) incluem 2,2'-biciclam, 6,6'-biciclam; as modalidades publicadas na Patente U.S. Nº 5.021.409 e 6.001.826 e, em particular, 1,1'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano, publicada na Patente U.S. Nº 5.583.131, e aqui denominada AMD3100.

Outras modalidades preferidas incluem:

N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-aminometilpiridina;

7,7'-[1,4-fenilenobis(metileno)]bis-4,7,10,17-tetra-azabicyclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trieno;

7,7'-[1,4-fenilenobis(metileno)]bis-3,7,11,17-tetra-azabicyclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trieno;

1,1'-[1,3-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;

1,1'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;

1,1'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,7,10-tetra-azaciclotetradecano;



- 1,1'-[1,3-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,7,10-tetra-azaciclotetradecano;
- 11,11'-[1,2-propanodiil]-bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;
- 5 N-[4-(1,4,7-triazaciclotetradecano)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;
- N-[7-(4,7,10-triazabicclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trieno)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;
- N-[7-(4,7,10,17-tetraazabicclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trieno)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;
- 10 N-[4-(4,7,10,17-tetraazabicclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trieno)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;
- 3,3'-(bis-1,5,9,13-tetraazaciclohexadecano);
- 3,3'-(bis-1,5,8,11,14-pentaazaciclohexadecano), metileno (ou polimetileno)di-1-N-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;
- 15 3,3'-bis-1,5,9,13-tetraazaciclohexadecano;
- 3,3'-bis-1,5,8,11,14-pentaazaciclohexadecano;
- 5,5'-bis-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano;
- 2,5'-bis-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano;
- 2,6'-bis-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano;
- 20 11,11'-(1,2-etanodiil)bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;
- 11,11'-(1,2-propanodiil)bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;
- 11,11'-(1,2-butanodiil)bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;
- 11,11'-(1,2-pentanodiil)bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;
- 11,11'-(1,2-hexanodiil)bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;
- 25 3,3'-bis-1,5,9,13-tetraazaciclohexadecano;
- 3,3'-bis-1,5,8,11,14-pentaazaciclohexadecano;
- 5,5'-bis-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano;
- 2,5'-bis-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano;
- 2,6'-bis-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano;
- 30 11,11'-(1,2-etanodiil)bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;
- 11,11'-(1,2-propanodiil)bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;
- 11,11'-(1,2-butanodiil)bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetradecano;

- 11,11'-(1,2-pentanodiil)bis-1,4,8,11-tetra-azaciclodecane;
11,11'-(1,2-hexanodiil)bis-1,4,8,11-tetra-azaciclodecane;
1,1'-[1,3-fenilenobis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetra-azaciclodecane;
5 1,1'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetra-azaciclodecane;
1,1'-[3,3'-bifenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetra-azaciclodecane;
10 11,11'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,7,11-tetraazaciclodecane;
1,11'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]-1,4,8,11-tetra-azaciclodecane;
1,1'-[2,6-piridina-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetra-azaciclodecane;
15 1,1'-[3,5-piridina-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetra-azaciclodecane;
1,1'-[2,5-tiofeno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetra-azaciclodecane;
20 1,1'-[4,4'-(2,2'-bipiridina-bis(metileno))-bis-1,4,8,11-tetraazaciclodecane;
1,1'-[2,9-(1,10-fenantrolina)-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetraazaciclodecane;
1,1'-[1,3-fenilenobis(metileno)]-bis-1,4,7,10-tetra-azaciclodecane;
25 1,1'-[1,4-fenilenobis(metileno)]-bis-1,4,7,10-tetra-azaciclodecane;
1,1'-[5-nitro-1,3-fenilenobis(metileno)]bis-1,4,8,11-tetraazaciclodecane;
30 1,1'-[2,4,5,6-tetracloro-1,3-fenilenobis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetraazaciclodecane;
1,1'-[2,3,5,6-tetrafluor-1,4-fenilenobis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetraazaciclodecane;

- 1,1'-[1,4-naftileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetra-azaciclotetra-
decano;
- 1,1'-[1,3-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,5,9-tri-azaciclododecano;
- 1,1'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]-1,5,9-tri-azaciclododecano;
- 5 1,1'-[2,5-dimetil-1,4-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetraaza-
ciclotetradecano;
- 1,1'-[2,5-dicloro-1,4-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetraaza-
ciclotetradecano;
- 1,1'-[2-bromo-1,4-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetraazaci-
10 clotetradecano;
- 1,1'-[6-fenil-2,4-piridinabis-(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetraazaciclo-
tetradecano;
- 7,7'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]bis-3,7,11,17-tetra-azabici-
clo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trieno;
- 15 7,7'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]bis-[15-cloro-3,7,11,17-tetraaza-
biciclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trieno];
- 7,7'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]bis-[14-metóxi-3,7,11,17-tetra-
azabiciclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trieno;
- 7,7'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]bis-3,7,11,17-tetra-azabici-
20 clo[13.3.1]heptadeca-13,16-trieno-15-ona;
- 7,7'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]bis-4,7,10,17-tetra-azabici-
clo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trieno;
- 8,8'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]bis-4,8,12,19-tetra-azabici-
clo[15.3.1]nonadeca-1(19),15,17-trieno;
- 25 6,6'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]bis-3,6,9,15-tetra-azabici-
clo[11.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trieno;
- 6,6'-[1,3-fenileno-bis(metileno)]bis-3,6,9,15-tetra-azabici-
clo[11.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trieno;
- 17,17'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]bis-3,6,14,17,23,24-hexaazatri-
30 ciclo[17.3.1.1^{8,12}]tetracosa-1(23),8,10,12(24),19,21-hexano;
- N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-
(amino-metil)piridina;

23

- N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-N-metil-2-(amino-metil)piridina;
- 5 N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-4-(amino-metil)piridina;
- N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-3-(amino-metil)piridina;
- N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(amino-metil-5-metil)pirazina;
- 10 N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(amino-etil)piridina;
- N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(amino-metil)tiofeno;
- N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(amino-etil)mercaptan;
- 15 N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-amino-benzilamina;
- N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-4-amino-benzilamina;
- N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-4-
- 20 (amino-etil)imidazol;
- N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-benzilamina;
- N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-purina;
- 25 N-[1,4,8,11-tetraazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno)]-4-fenilpiperazina;
- N-[4-(1,4,7-triazaciclotetradecanil-1,4-fenilenobis(metileno))]-2-(aminometil)piridina;
- N-[7-(4,7,10,17-tetraazabicyclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-tri-
- 30 enil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;
- N-[7-(4,7,10-triazabicyclo[13.3.1]-heptadeca-1(17),13,15-trienil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

N-[4-[4,7,10-triazabicyclo[13.3.1]-heptadeca-1(17),13,15-trienil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

N-[1-(1,4,7-triazacyclotetradecanil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

5 N-[4-[4,7,10,17-tetraazabicyclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trienil]-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

N-[3-(3,6,17-triazabicyclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trienil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

10 N-[3-(3,6,17-triazabicyclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trienil)-1,3-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

N-[4-(4,7,17-triazabicyclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trienil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

N-[7-(4,7,17-triazabicyclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trienil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

15 N-[6-(3,6,9-triazabicyclo[11.3.1]pentadeca-1(15),11,13-trienil)-1,3-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

N-[7-(4,10,17-triazabicyclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trienil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

20 N-[4-(1,7-diazacyclotetradecanil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

N-[7-(4,10-diazabicyclo[13.3.1]heptadeca-1(17),13,15-trienil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

N-[4-(11-flúor-1,4,7-triazacyclotetradecanil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

25 N-[4-(11,11-diflúor-1,4,7-triazacyclotetradecanil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

N-[4-(1,4,7-triazacyclotetradecan-2-ona-il)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

30 N-[12-(5-oxa-1,9-diazacyclotetradecanil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

N-[4-(11-oxa-1,7-diazacyclotetradecanil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;

- N-[4-(11-tia-1,7-diazaciclotetradecanil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;
- N-[4-(11-sulfoxo-1,7-diazaciclotetradecanil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;
- 5 N-[4-(11-sulfono-1,7-diazaciclotetradecanil)-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;
- N-[4-(1,4,7-triazaciclotetradecan-3-ona-il))-1,4-fenilenobis(metileno)]-2-(aminometil)piridina;
- 10 N-(2-piridinilmetil)-N'-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(6,7-dihidro-5H-ciclohepta[b]piridin-7-il)-1,4-benzenodimetanamina;
- 15 N-(2-piridinilmetil)-N'-(1,2,3,4-tetraidro-1-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(1-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-[(2-piridinilmetil)amino]etil]-N'-(1-metil-
- 20 (1,2,3,4-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-[(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]etil]-N'-(1-metil-(1,2,3,4-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-[1,2,3,4-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 25 N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-[(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]etil]-N'-(1,2,3,4-tetraidro-1-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(2-fenil-5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N,N'-bis(2-piridinilmetil)-N'-(2-fenil-5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-
- 30 1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-5-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

- N-(2-piridinilmetil)-N'-(1H-imidazol-2-ilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-5-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(1H-imidazol-2-ilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 5 N-(2-piridinilmetil)-N'-[(2-amino-3-fenil)propil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(1H-imidazol-4-ilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(2-quinolinilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 10 N-(2-piridinilmetil)-N'-(2-(2-naftoil)aminoetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-[(S)-(2-acetilamino-3-fenil)propil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 15 N-(2-piridinilmetil)-N'-[(S)-(2-acetilamino-3-fenil)propil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-[3-((2-naftalenilmetil)amino)propil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-(S)-pirrolidinilmetil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 20 N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-(R)-pirrolidinilmetil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-[3-pirazolilmetil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 25 N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-pirrolilmetil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-tiofeneilmetil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-tiazolilmetil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 30 N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-furanilmetil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-[(fenilmetil)amino]etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(2-aminoetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

5 N-(2-piridinilmetil)-N'-3-pirrolidinil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-4-piperidinil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

10 N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-[(fenil)amino]etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(7-metóxi-1,2,3,4-tetraidro-2-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(6-metóxi-1,2,3,4-tetraidro-2-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;

15 N-(2-piridinilmetil)-N'-(1-metil-1,2,3,4-tetraidro-2-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(7-metóxi-3,4-dihidronaftalenil)-1-(amino-metil)-4-benzamida;

20 N-(2-piridinilmetil)-N'-(6-metóxi-3,4-dihidronaftalenil)-1-(amino-metil)-4-benzamida;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(1H-imidazol-2-ilmetil)-N'-(7-metóxi-1,2,3,4-tetraidro-2-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(8-hidróxi-1,2,3,4-tetraidro-2-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;

25 N-(2-piridinilmetil)-N'-(1H-imidazol-2-ilmetil)-N'-(8-hidróxi-1,2,3,4-tetraidro-2-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(8-flúor-1,2,3,4-tetraidro-2-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;

30 N-(2-piridinilmetil)-N'-(1H-imidazol-2-ilmetil)-N'-(8-flúor-1,2,3,4-tetraidro-2-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-7-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

18
m

N-(2-piridinilmetil)-N'-(1H-imidazol-2-ilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-7-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-[(2-naftalenilmetil)amino]etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

5 N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-(isobutilamino)etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-[(2-piridinilmetil)amino]etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

10 N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-[(2-furanilmetil)amino]etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(2-guanidinoetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-[bis-[(2-metóxi)fenilmetil)amino]etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

15 N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-[(1H-imidazol-4-ilmetil)amino]etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-[(1H-imidazol-2-ilmetil)amino]etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

20 N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-(fenilureído)etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-[[N''-(n-butil)carboxamido]metil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(carboxamidometil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

25 N-(2-piridinilmetil)-N'-[[N''-fenil)carboxamidometil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(carboximetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

30 N-(2-piridinilmetil)-N'-(fenilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N'-(1H-benzimidazol-2-il-metil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

- N-(2-piridinilmetil)-N'-(5,6-dimetil-1H-benzimidazol-2-ilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina (sal de bromidrato);
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(5-nitro-1H-benzimidazol-2-ilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 5 N-(2-piridinilmetil)-N'-[(1H)-5-azabenzimidazol-2-ilmetil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N-(4-fenil-1H-imidazol-2-ilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 10 N-(2-piridinilmetil)-N'-(2-benzoxazolil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(trans-2-aminociclohexil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 15 N-(2-piridinilmetil)-N'-(2-feniletil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(3-fenilpropil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-piridinilmetil)-N'-(trans-2-aminociclopentil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 20 N-[[4-[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-glicinamida;
- N-[[4-[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-(L)-alaninamida;
- 25 N-[[4-[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-(L)-aspartamida;
- N-[[4-[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-pirazinamida;
- N-[[4-[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-(L)-prolinamida;
- 30 N-[[4-[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-(L)-lisinamida;

N-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-benzamida;

N-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-picolinamida;

5 N'-benzil-N-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-uréia;

N'-fenil-N-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-uréia;

10 N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[bacteriapiridin-9-il]-4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]benzamida;

N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]benzamida;

N,N'-bis(2-piridinilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

15 N,N'-bis(2-piridinilmetil)-N'-(6,7,8,9 tetraidro-5H- ciclohepta[bacteriapiridin-9-il]-1,4-benzenodimetanamina;

N,N'-bis(2-piridinilmetil)-N'-(6,7-dihidro-5H- ciclo-penta[bacteriapiridin-7-il]-1,4-benzenodimetanamina;

20 N,N'-bis(2-piridinilmetil)-N'-(1,2,3,4-tetrahidro-1-naftalenil)-1,4-benzenodimetanamina;

N,N'-bis(2-piridinilmetil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)metil]-1,4-benzenodimetanamina;

N,N'-bis(2-piridinilmetil)-N'-[(6,7-dihidro-5H-ciclo-penta[bacteriapiridin-7-il)metil]-1,4-benzenodimetanamina;

25 N-(2-piridinilmetil)-N-(2-metoxietil)-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-piridinilmetil)-N-[2-(4-metoxifenil)etil]-N'-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

30 N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)benzenodimetanamina;

N-[(2,3-dimetoxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N,N'-bis(2-piridinilmetil)-N-[1-(N"-fenil-N"-metilureído)-4-piperidinil]-1,3-benzenodimetanamina;

N,N'-bis(2-piridinilmetil)-N-[N"-p-toluenossulfonilfenilalanil]-4-piperidinil]-1,3-benzenodimetanamina;

5 N,N'-bis(2-piridinilmetil)-N-[1-[3-(2-clorofenil)-5-metil-isoxazol-4-olil]-4-piperidinil]-1,3-benzenodimetanamina;

N-[(2-hidroxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[bacteriapiridin-9-il])-1,4-benzenodimetanamina;

10 N-[(4-cianofenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8, 9-tetraidro-5H-ciclohepta[bacteriapiridin-9-il])-1,4-benzenodimetanamina;

N-[(4-cianofenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[(4-acetamidofenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

15 N-[(4-fenoxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[bacteriapiridin-9-il])-1,4-benzenodimetanamina;

N-[(1-metil-2-carboxamido)etil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

20 N-[(4-benziloxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[bacteriapiridin-9-il])-1,4-benzenodimetanamina;

N-[(tiofeno-2-il)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[bacteriapiridin-9-il])-1,4-benzenodimetanamina;

N-[1-(benzil)-3-pirrolidinil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

25 N-[[1-metil-3-(pirazol-3-il)]propil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

N-[1-(fenil)-etil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

30 N-[(3,4-metilenodioxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[1-benzil-3-carboximetil-4-piperidinil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

N-[(3,4-metilenodioxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(3-piridinilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

5 N-[[1-metil-2-(2-tolil)carboxamido]etil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

N-[(1,5-dimetil-2-fenil-3-pirazolinona-4-il)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

10 N-[(4-propoxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(1-fenil-3,5-dimetilpirazolin-4-ilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[1H-imidazol-4-ilmetil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

15 N-[(3-metóxi-4,5-metilenodioxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[(3-cianofenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

20 N-[(3-cianofenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(5-etiltiofeno-2-ilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(5-etiltiofeno-2-ilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

25 N-[(2,6-difluorfenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[(2,6-difluorfenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

30 N-[(2-difluormetoxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(2-difluormetoxifenilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(1,4-benzodioxan-6-ilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-N'-bis(2-piridinilmetil)-N-[1-(N"-fenil-N"-metilureído)-4-piperidinil]-1,4-benzenodimetanamina;

5 N-N'-bis(2-piridinilmetil)-N-[N"-p-toluenossulfonilfenilalanil)-4-piperidinil]-1,4-benzenodimetanamina;

N-[1-(3-piridinacarboxamido)-4-piperidinil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

10 N-[1-(ciclopropilcarboxamido)-4-piperidinil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[1-(1-fenilciclopropilcarboxamido)-4-piperidinil]-(N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(1,4-benzodioxan-6-ilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

15 N-[1-[3-(2-clorofenil)-5-metil-isoxazol-4-carboxamido]-4-piperidinil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[1-(2-tiometilpiridina-3-carboxamido)-4-piperidinil]-(N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

20 N-[(2,4-difluorfenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(1-metilpirrol-2-ilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[(2-hidroxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

25 N-[(3-metóxi-4,5-metilenodioxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(3-piridinilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

30 N-[2-(N"-morfolinometil)-1-ciclopentil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[(1-metil-3-piperidinil)propil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

34
A

- N-(1-metilbenzimidazol-2-ilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-[1-(benzil)-3-pirrolidinil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 5 N-[[1-(1-fenil-3-(N"-morfolino))propil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-[1-(isopropil)-4-piperidinil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 10 N-[1-(etoxicarbonil)-4-piperidinil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-[(1-metil-3-pirazolil)propil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-[1-metil-2-(N",N"-dietilcarboxamido)etil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 15 N-[(1-metil-2-fenilsulfonil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-[(2-cloro-4,5-metilenodioxifenil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-[1-metil-2-[N"-(4-clorofenil)carboxamido]etil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- 20 N-(1-acetoxiindol-3-ilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-[(3-benzilóxi-4-metoxifenil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;
- 25 N-(3-quinolilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-[(8-hidróxi-2-quinolilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;
- N-(2-quinolilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;
- 30 N-[(4-acetamidofenil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[1H-imidazol-2-ilmetil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(3-quinolilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

5 N-(2-tiazolilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(4-piridinilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

10 N-[(5-benzilóxi)benzo[b]pirrol-3-ilmetil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(1-metilpirazol-2-ilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[(4-metil)-1H-imidazol-5-ilmetil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

15 N-[[4-dimetilamino)-1-naftalenil]metil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[1,5-dimetil-2-fenil-3-pirazolinona-4-ilmetil]-N,N'-bis(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

20 N-[1-[(1-acetil-2-(R)-prolinil)-4-piperidinil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

N-[1-[2-acetamidobenzoil-4-piperidinil]-4-piperidinil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

N-[[2-ciano-2-fenil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

25 N-[(N"-acetiltryptofanil)-4-piperidinil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

N-[(N"-benzoilvalinil)-4-piperidinil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

30 N-[(4-dimetilaminofenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(4-piridinilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(1-metilbenzimidazol-2-ilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[1-butil-4-piperidinil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

5 N-[1-benzoil-4-piperidinil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

N-[1-(benzil)-3-pirrolidinil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

10 N-[(1-metil)benzo[b]pirrol-3-ilmetil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

N-[1H-imidazol-4-ilmetil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,3-benzenodimetanamina;

N-[1-(benzil)-4-piperidinil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

15 N-[1-metilbenzimidazol-2-ilmetil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-[(2-fenil)benzo[b]pirrol-3-ilmetil]-N-[2-(2-piridinil)etil]-N'-(2-piridinilmetil)-1,4-benzenodimetanamina;

20 N-[(6-metilpiridin-2-il)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,4-benzenodimetanamina;

N-(3-metil-1H-pirazol-5-ilmetil)-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,3-benzenodimetanamina;

N-[(2-metoxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,3-benzenodimetanamina;

25 N-[(2-etoxifenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[b]piridin-9-il)-1,3-benzenodimetanamina;

N-(benziloxietil)N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,3-benzenodimetanamina;

30 N-[(2-etóxi-1-naftalenil)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,3-benzenodimetanamina;

N-[(6-metilpiridin-2-il)metil]-N'-(2-piridinilmetil)-N-(5,6,7,8-tetraidro-8-quinolinil)-1,3-benzenodimetanamina;

1-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]guanidina;
N-(2-piridinilmetil)-N-(8-metil-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-il)-1,4-
benzenodimetanamina;

5 1-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]homopiperazina;
1-[[3-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]homopiperazina;
trans e *cis*-1-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-3,5-pipe-
ridinadiamina;

10 N,N'-[1,4-fenilenobis(metileno)]bis-4-(2-pirimidil)piperazina;
1-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-1-(2-piridi-
nil)metilamina;

2-(2-piridinil)-5-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]-1,2,3,4-tetrahidroi-
soquinolina;

1-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-3,4-diaminopirrolidi-
dina;

15 1-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-3,4-diacetilaminopir-
rolidina;

8-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-2,5,8-triaza-3-oxa-
bicyclo[4.3.0]nonano; e

20 8-[[4-[[[(2-piridinilmetil)amino]metil]fenil]metil]-2,5,8-triazabici-
clo[4.3.0]nonano.

Métodos para sintetizar os compostos úteis no método da inven-
ção são expostos nas patentes e pedido U.S. ora incorporadas acima por
referência.

25 Como acima fornecido, AMD3100 é um antagonista com o re-
ceptor de quimiocina CXCR4 (Gerlach *et al.*, *J Biol. Chem* (2001)276:14153-
14160). Este composto interfere com a ligação de SDF-1 derivado de célula
do estroma de medula óssea com CXCR4 nas células-tronco, levando a uma
liberação das células-tronco hematopoéticas da medula óssea para a circula-
ção (Broxmeyer *et al.*, *Blood* (2001) 98:811a (Resumo)). Em um teste de Fase
30 1 na Universidade de Washington, Seattle, uma única dose de 80 µg/kg de
AMD-3100 resultou em uma contagem de WBC de 17.000/µl e um pico 6 ve-
zes maior nas células-tronco/progenitoras CD34+ circulantes no tempo de 6

horas (Liles et al., *Blood* 2001 98:737a (Resumo)). Em um outro teste recente, camundongos foram injetados com rhG-CSF e Fator de Célula-tronco de rato recombinante (rrSCF), de modo a mobilizar grandes números de células-tronco de medula óssea na circulação, e a seguir induziu-se um ataque cardíaco. A combinação de rrSCF e rhG-CSF providencia um número de pico de células-tronco circulantes após 5 injeções diárias. Em 27 dias pós-cirurgia, havia uma melhora de 68% na sobrevivência do grupo tratado versus os controles. Neste tempo, o tecido morto foi substituído com miocárdio regenerado e todos os parâmetros funcionais testados foram melhores, comparado com os controles (Orlic et al., *PNAS* (2001) 98:10344-10349).

Os compostos da invenção podem ser preparados na forma de pró-drogas, ou seja, formas protegidas que liberam os compostos da invenção após administração ao indivíduo. Tipicamente, os grupos de proteção são hidrolisados nos fluidos corpóreos, tal como na corrente sangüínea, liberando, assim, o composto ativo, ou são oxidados ou reduzidos *in vivo* a fim de liberar o composto ativo. Uma discussão de pró-drogas é encontrada em Smith and Williams Introduction to the Principles of Drug Design, Smith, H.J., Wright, 2^a ed., London (1988).

Os compostos da invenção, sendo poliaminas, podem ser administrados preparados nas formas de seus sais de adição de ácido, ou seus complexos metálicos. Sais de adição de ácido adequados incluem sais de ácidos inorgânicos biocompatíveis, incluindo HCl, HBr, ácido sulfúrico, fosfórico e similares, bem como ácidos orgânicos tais como ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico e semelhantes, bem como ácidos contendo mais que um grupo carboxila, tais como ácido oxálico, glutárico, adípico e similares. Tipicamente, no pH fisiológico, os compostos da invenção estarão nas formas dos sais de adição de ácido. Particularmente preferidos são os cloridratos. Além disso, quando preparados como formas purificadas, os compostos também podem ser cristalizados como hidratos.

Os compostos da invenção podem ser administrados como únicos ingredientes ativos, como misturas de vários compostos de fórmula (1), e/ou em misturas com ingredientes ativos adicionais que sejam terapêutica-

mente ou nutricionalmente úteis, como antibióticos, vitaminas, extratos herbáceos, antiinflamatórios, glicose, antipiréticos, analgésicos, fator estimulante de colônia granulócito-macrófago (GM-CSF), Inteleucina -1 (IL-1), Interleucina 3 (IL-3), Interleucina 8 (IL-8), PIXY-321 (proteína de fusão GM-CSF/IL-3) proteína inflamatória de macrófago, fator de célula-tronco, trombopoietina, oncogene relacionada a crescimento, ou quimioterapia e similares.

Os compostos da invenção podem ser formulados para administração ao indivíduo animal, usando técnicas de formulação comumente conhecidas dos versados na técnica. As formulações adequadas para modos particulares de administração e para os composto do tipo representado pelos de fórmula (1) podem ser vistos em Remington's Pharmaceutical Sciences, última edição, Mack Publishing Company, Easton, PA.

De preferência, os compostos são administrados por injeção, mais preferivelmente por injeção intravenosa, mas também por injeção subcutânea, ou intraperitoneal, e similar. Vias parenterais adicionais de administração incluem injeção intramuscular e intra-articular. Para administração intravenosa ou parenteral, os compostos são formulados na forma líquida adequada com excipientes conforme necessário. As composições podem conter lipossomas ou outros veículos adequados. Para injeção intravenosa, a solução é tornada isotônica usando preparações padrão como solução de Hank.

Além de injeção, outras vias de administração também podem ser usadas. Os compostos podem ser formulados em comprimidos, cápsulas, xaropes, pós ou outras formas de administração oral. Mediante uso de excipiente adequados, esses compostos podem ser administrados também através da mucosa, usando supositórios ou pulverização intranasal. A administração transdérmica também pode ser efetuada, mediante uso de penetrantes adequados e controlando a velocidade de liberação.

A formulação e via de administração escolhidas serão adequadas ao indivíduo em questão, à natureza da condição a ser tratada no indivíduo e em geral, ao julgamento do médico atendente.

Faixas de dosagem adequadas para os compostos de fórmula (1) variam de acordo com essas considerações, porém em geral, os com-

40
A

postos são administrados na faixa de cerca de 0,1 $\mu\text{g/kg}$ - 5 mg/kg de peso corporal, de preferência a faixa é cerca de 1 $\mu\text{g/kg}$ - 300 $\mu\text{g/kg}$ de peso corporal, mais preferivelmente cerca de 10 $\mu\text{g/kg}$ - 100 $\mu\text{g/kg}$ de peso corporal. Para um ser humano típico de 70 kg a faixa de dosagem é de cerca de 0,7 μg - 350 mg , de preferência cerca de 700 μg - 21 mg , mais preferivelmente cerca de 700 μg - 7 mg .

Dosagens podem ser maiores quando os compostos são administrados oralmente e/ou transdermicamente, se comparado com, por exemplo, administração i.v..

10 Os compostos podem ser administrados como uma dose de massa única, uma dose além do tempo estipulado, como na administração transdérmica ou intravenosa, ou em doses múltiplas.

Além da administração direta ao indivíduo, os compostos de fórmula (1) podem ser usados em protocolos de tratamento *ex vivo* para preparar culturas celulares que são a seguir usadas para suprir as células sangüíneas do indivíduo. O tratamento *ex vivo* pode ser realizado em células autólogas coletadas do sangue periférico ou medula óssea ou de aloenxertos de doadores condizentes. A concentração do composto ou compostos de fórmula (1), sozinha ou em combinação com outros agentes, tais como proteína inflamatória de macrófago, é um assunto de otimização rotineira.

Indivíduos que responderão favoravelmente ao método da invenção incluem indivíduos médicos e veterinários geralmente incluindo pacientes humanos. Dentre outros indivíduos para os quais os métodos da invenção são úteis são gatos, cães, animais de grande porte, aves como galinhas e similares. Em geral, qualquer indivíduo que se beneficiaria de uma elevação de células progenitoras e/ou células-tronco, ou cujas células progenitoras e/ou células-tronco sejam desejáveis para transplante de célula-tronco, são apropriados para a administração do método da invenção.

Condições típicas que podem ser melhoradas ou de outro modo beneficiadas pelo método da invenção, incluem distúrbios hematopoéticos, como anemia aplástica, leucemias, anemias induzidas por droga, e déficits hematopoético de quimioterapia ou terapia de radiação. O método da inven-

ção também é útil em intensificar o sucesso do transplante, durante e seguinte aos tratamentos imunossuppressores, bem como em efetuar cura de ferimento mais eficiente e tratamento de inflamação bacteriana. O método da presente invenção é ainda útil para tratar indivíduos que estão imunocomprometidos, ou cujo sistema imune está, de outro modo, prejudicado. Condições típicas que são, de outro modo, melhoradas ou beneficiadas, pelo método da presente invenção, incluem aqueles indivíduos que estão infectados como um retrovírus e mais especificamente que estão infectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV). O método da invenção visa assim, um amplo espectro de condições para as quais a elevação das células progenitoras e/ou células-tronco em um indivíduo seria benéfica, ou onde a coleta de células progenitoras e/ou célula-tronco para subsequente transplante de célula-tronco seria benéfica.

Os compostos da invenção também são administrados para regenerar o miocárdio mobilizando células-tronco de medula óssea.

Tendo agora descrito genericamente a invenção, a mesma será mais prontamente entendida através de referência aos seguintes exemplos, que são providenciados à guisa de ilustração e não se destinam a limitar a presente invenção, a menos que de outro modo indicado.

Exemplo 1

Elevação dos Níveis de Célula Progenitora de Camundongo

Foram medidos os efeitos de administração subcutânea (s.c) de 1,1'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetrazacicotetradecano (AMD3100) a camundongos C3H/H3 J, em números de granulócito macrófago (CFU-GM), eritróide (BFU-E) e células progenitoras multipotenciais (CFU-GEMM) por ml de sangue. As progenitoras foram estimuladas para formar colônias *in vitro* com a combinação de 1U/ml rhu Epo, 50 ng/ml rhu SLF, meio condicionado de célula de baço de camundongo mitogénicas de erva-dos-cancros a 5% vol/vol (PWMSM) e 0,1 mM de hemina. As placas foram classificadas 7 dias após incubação.

Os efeitos dependentes de tempo no número de progenitoras mobilizadas com AMD3100 são para uma única injeção s.c de 5 mg/kg e são

mostrados na Tabela 1.

Tabela 1

	Progenitoras absolutas por ml de sangue Cultura de metilcelulose		
	CFU-GM	BFU-E	CFU-GEMM
Controle	289,8	49,4	25,8
AMD3100:15"	791,6	134,5	90,4
AMD3100:30"	1805,5	209,3	113,5
AMD3100:120"	828,7	102,3	47,6

Para se medir os efeitos dose-dependentes, AMD3100 foi administrado em 1, 2,5, 5 e 10 mg/kg, via uma única injeção s.c, e o número de progenitoras por ml de sangue foi medido em a hora pós-administração, e os resultados demonstram-se na Tabela 2.

Tabela 2

	Número absoluto de progenitoras por ml de sangue Cultura de metilcelulose		
	CFU-GM	BFU-E	CFU-GEMM
Solução Salina	188,1	16	19
AMD3100:10mg/kg	825,6	120,5	79,8
AMD3100:5mg/kg	608,4	92,8	69,5
AMD3100:2,5mg/kg	687,6	98,9	70,6
AMD3100:1mg/kg	424	62	27,1

Alteração dobrada comparado com tempo 0

Tempo	Progenitoras cultura de metilcelulose		
	GM	BFU-E	CFU-GEMM
15"	2,73	2,72	3,51
30"	6,23	4,24	4,41
2"	2,86	2,07	1,85

A mobilização máxima de progenitoras de camundongo é conseguida a uma dose de 2,5 a 10 mg/kg de AMD3100, e foi observada durante 0,25 a 2 horas após injeção, como se demonstra na Tabela 2 acima.

Exemplo 2

Mobilização de Células Progenitoras de Camundongos em Combinação com MIP-1 α e G-CSF

5 A capacidade de mobilização celular progenitora de AMD3100, em combinação com proteína inflamatória de macrófago (μ) de camundongo (MIP-1 α), foi testada com ou sem administração prévia de rhu G-CSF. MIP-1 α demonstrou previamente mobilizar células progenitoras em camundongos e seres humanos (Broxmeyer, H.E. *et al.*, *Blood Cells, Molecules, and Diseases* (1998) 24(2):14-30).

10 Grupos de camundongo foram aleatorizados para receber diluente controle (solução salina) ou G-CSF a uma dose de 2,5 μ g por camundongo, duas vezes ao dia, durante dois dias, via injeção s.c. Onze horas após a injeção final de solução salina de G-CSF os camundongos foram divididos em grupos para receber MIP-1 α administrado i.v, em uma dose total
15 de 5 μ g, AMD3100 administrado s.c. a uma dose de 5 mg/kg, ou uma combinação de ambos MIP-1 α e AMD3100 nas mesmas doses. Uma hora depois, os camundongos foram sacrificados e o número de células progenitoras por ml de sangue foi medido. Esses dados estão resumidos na Figura 1.

20 AMD 3100 age em um aditivo maior do que o modo aditivo para mobilização de células progenitoras quando usado em combinação com proteína inflamatória de macrófago de camundongo (μ) (MIP)-1 α , cada dados 11 horas após adição de G-CSF rhu ou diluente de controle (solução salina) e 1 hora antes da avaliação do sangue.

Exemplo 3

25 Elevação Clínica de Níveis de Células Progenitoras

Cinco voluntários humanos saudáveis com contagens de célula sangüínea branca inicial de 4.500-7.500 células/mm³ foram usados no teste. A cada paciente foi dado uma única injeção subcutânea de 80 μ g/kg AMD3100 (ou seja, 1,1'-[1,4-fenileno-bis(metileno)]-bis-1,4,8,11-tetraazacloctetradecano) em solução salina a 0,9%, de uma solução de estoque de 10
30 mg/ml de AMD3100 em solução salina, sob condições estéreis. As amostras de sangue foram obtidas via cateter antes da dose, e em vários pontos de

tempo até 24 horas após dosagem.

- 5 As amostras de sangue foram avaliadas para células sangüíneas brancas totais, células progenitoras positivas CD34 (via análise FACS), como uma percentagem de células sangüíneas brancas totais, bem como números absolutos por ml e condição de ciclização de granulócito macrófago (CFU-GM), eritróide (BFU-E) e células progenitoras multipotenciais (CFU-GEMM).

- 10 Como se vê nas Tabelas 3 e 4, a administração de AMD3100 ocasionou uma elevação da contagem de células sangüíneas brancas e de células progenitoras positivas CD34 em voluntários humanos, que maximizou em 6 horas pós-administração.

Tabela 3

Mobilização Induzida por AMD3100 de Células Sangüíneas da Série Branca em Voluntários Individuais (x 10³ WBC's)

Intra-dérmico	Teste	Linha de referência	Tratamento						
			30 min	1h	2h	4h	6h	9h	Dia 2
P1	7,4	6,41	8,02	14,8	21,4	23,2	26,2	22,3	7,07
P2	6,04	5,45	6,53	8,93	13,5	18,00	19,2	19,6	8,03
P3	4,38	5,8	7,14	9,28	ND	18,10	17,9	18,4	4,98
P4	5,08	5,31	4,37	7,38	12,4	14,6	15,8	13,9	4,98
P5	4,53	5,02	6,08	8,43	ND	16,90	19,3	19,00	4,57

Tabela 4

- 15 Mobilização induzida por AMD3100 de células positivas CD34, expressas como a percentagem dos voluntários individuais WBC's total

Intradérmico	Linha de referência	Tratamento				
		1h	3h	6h	9h	Dia 2
P1	0,07	0,04	0,07	0,11	0,11	0,08
P2	0,08	0,06	0,08	0,13	0,11	0,12
P3	0,07	0,16	0,06	ND	0,11	0,07
P4	0,05	0,07	0,09	0,09	0,1	0,1
P5	0,12	0,12	0,13	0,2	0,2	0,16

O sangue também foi analisado para AMD3100 mobilizado desses progenitores.

Números absolutos de células nucleadas não-separadas e de

baixa densidade (separadas por "Fico-hypaque") por ml de sangue, bem como números absolutos por ml e estado de ciclagem de granulócito macrófago (CFU-GM), eritróide (BFU-E) e células progenitoras (CFU-GEMM) multipotenciais foram medidos em doadores comuns injetados via s.c com AMD3100. Os parâmetros acima foram avaliados antes da injeção e a 1, 3, 6, 9 e 24 horas pós-injeção de AMD3100. Todos os resultados de células progenitoras são baseados na contagem de 3 placas de cultura por ensaio por ponto.

Para os números de célula progenitora e condição de ciclagem, os números de CFU-GM, BFU-E e CFU-GEMM em culturas de metilcelulose por estímulo das células com eritropoietina humana recombinante (rhu) 1 unidade(U)/ml, fator estimulante de colônia granulócito-macrófago (GM-CSF) 100 U/ml rhu, interleucina-3 (IL-3) 100 U/ml rhu e 50 ng/ml rhu de fator de insensibilidade (SLF = fator de célula-tronco (SCF)). O CFU-GM também foi avaliado em culturas ágar-ágar, estimulado com 100 U/ml rhu de GM-CSF e 50 ng/ml rhu SLF. Para ambos os tipos de testes, colônias foram contadas após 1 dia de incubação em uma atmosfera umidificada com 5% de CO₂ e tensão reduzida de O₂ (5%). A condição de ciclagem de célula progenitora foi medida, usando uma técnica de aniquilação com timidina tritiada de alta atividade específica, conforme previamente descrito (Broxmeyer, H.E. *et al.*, *Exp. Hematol.* (1989) 17:455-459).

Os resultados são dados, primeiramente, como a alteração em dobro da média em números absolutos de células nucleadas e progenitoras a 1, 3, 6, 9 e 24 horas, conforme comparado com a pré-injeção (=tempo (T)0), contadas para todos os cinco doadores, como visto nas Tabelas 5-7.

Nas tabelas abaixo,

STD = desvio padrão

STE = erro padrão

PBL-US - sangue periférico não-separado

PBL-LD - sangue periférico de baixa densidade (separadas por Ficoll)

P = Significância usando um teste t de duas extremidades.

Tabela 5

Alteração dobrada comparada com TEMPO = 0 (média de 5 doadores)

CELULARIDADE NUCLEADA									
PBL-US					PBL-LD				
	MEAN	STD	STE	%CHG	P	MEAN	STD	STE	P
T=0	1,00	0,00	0,00	0,0%		1,00	0,00	0,00	
T=1	1,69	0,00	0,00	68,6%	0,017	1,86	0,00	0,00	0,000
T=3	2,80	0,51	0,23	180,2%	0,000	2,86	0,28	0,12	0,000
T=6	3,26	0,61	0,27	225,8%	0,000	3,66	0,43	0,19	0,001
T=9	3,09	0,69	0,31	209,4%	0,000	3,64	1,18	0,53	0,001
T=24	1,07	0,65	0,29	7,0%	0,553	1,05	1,19	0,53	0,815

Tabela 6

CULTURA DE METILCELOULOSE															
	CFU-GM					BFU-E					CFU-GEMM				
	MEAN	STD	STE	%CHG	P	MEAN	STD	STE	%CHG	P	MEAN	STD	STE	%CHG	P
T=0	1,00	0,00	0,00	0,0%		1,00	0,00	0,00	0,0%		1,00	0,00	0,00	0,0%	
T=1	4,77	0,00	0,00	376,7%	0,001	1,99	0,00	0,00	98,9%	0,002	2,32	0,00	0,00	131,8%	0,000
T=3	13,66	1,56	0,70	1266,5%	0,001	3,21	0,50	0,22	221,3%	0,004	4,33	0,44	0,20	332,5%	0,000
T=6	21,71	5,78	2,58	2070,6%	0,000	6,01	1,25	0,56	500,5%	0,006	10,07	0,59	0,27	907,2%	0,002
T=9	10,47	5,09	2,28	947,3%	0,000	4,34	2,99	1,34	334,4%	0,000	5,25	4,54	2,03	425,4%	0,014
T=24	1,56	3,01	1,34	55,5%	0,005	1,26	1,02	0,45	26,3%	0,194	1,53	3,04	1,36	53,2%	0,199

36

46

Tabela 7

CULTURA DE ÁGAR CFU-GM				
	MEAN	STD	STE	%CHG P
T=0	1,00	0,00	0,00	0,00%
T=1	2,81	0,00	0,00	180,8%
T=3	8,54	0,75	0,34	754,1%
T=6	17,93	1,62	0,72	1692,8%
T=9	10,25	4,57	2,04	924,9%
T=24	2,08	2,06	1,03	108,3%

Os resultados demonstram-se como uma alteração dupla de níveis T=0 para cada doador individual, como se vê nas Tabelas 8-10.

Tabela 8

Alteração em dobro comparada com Tempo = 0 para cada paciente individual (P)

CELULARIDADE NUCLEADA										
PBL-US					PBL-LD					
P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5	
T=0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
T=1	2,54	1,38	1,38	1,36	2,07	1,99	1,48	1,66	2,10	2,10
T=3	3,55	2,74	2,02	2,46	2,83	3,25	2,17	2,82	3,20	3,20
T=6	3,97	2,94	2,74	2,60	4,07	3,90	2,27	2,78	5,30	5,30
T=9	3,27	3,30	2,69	2,24	3,65	4,43	2,47	2,48	5,17	5,17
T=24	1,21	1,43	0,96	0,77	1,01	1,71	0,79	0,60	1,12	1,12

37 000000

5/2/2020

P1001570



P1001570

CULTURA DE ÁGAR CFU-GM					
	P1	P2	P3	P4	P5
T=0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
T=1	3,05	3,74	1,67	2,71	2,87
T=3	8,88	9,49	7,47	10,46	6,40
T=6	17,77	24,01	14,04	13,07	20,75
T=9		10,28	7,72	10,22	12,78
T=24		3,69	1,13	1,30	2,20

Os números reais de célula progenitora e célula nucleada por ml de sangue e o estado de ciclagem (= % de proge-

nitoras na fase de síntese de DNA (S) do ciclo celular) de progenitoras para cada um dos cinco doadores (Nºs. P1, P2, P3, P4 e P5), é visto nas Tabelas 11 e 12.

Tabela 11

	CFU-GM			BFU-E P1			CFU-GEMM			CFU-GM			BFU-E P2			CFU-GEMM		
	Número absoluto de progenitoras por ml	Condição de ciclagem de progenitoras	Condição de ciclagem de progenitoras	Número absoluto de progenitoras por ml	Condição de ciclagem de progenitoras	Condição de ciclagem de progenitoras	Número absoluto de progenitoras por ml	Condição de ciclagem de progenitoras	Condição de ciclagem de progenitoras	Número absoluto de progenitoras por ml	Condição de ciclagem de progenitoras	Condição de ciclagem de progenitoras	Número absoluto de progenitoras por ml	Condição de ciclagem de progenitoras	Condição de ciclagem de progenitoras	Número absoluto de progenitoras por ml	Condição de ciclagem de progenitoras	Condição de ciclagem de progenitoras
T=0	247	6%		261	0%		127	6%		273	0%		410	2%		120	0%	
T=1	1259	1%		674	0%		264	0%		1455	0%		608	3%		272	6%	
T=3	1760	1%		1340	13%		540	7%		4646	2%		809	0%		418	0%	
T=6	3624	0%		2388	0%		949	0%		6540	0%		1502	0%		1126	0%	
T=9	1547	2%		1418	11%		335	0%		3416	0%		1886	0%		854	4%	
T=24	271	0%		278	0%		142	0%		521	3%		768	2%		316	0%	

3001570

ag

Tabela 11 (continuação)

	CFU-GM			BFU-E P3			CFU-GEMM			CFU-GM			BFU-E P4			CFU-GEMM		
	Número absoluto de pro-genitoras por ml	Condi-ção de cicla-gem de proge-nitoras	Número absoluto de pro-genitoras por ml	Número absoluto de pro-genitoras por ml	Condi-ção de cicla-gem de proge-nitoras	Condi-ção de cicla-gem de proge-nitoras	Número absoluto de pro-genitoras por ml	Condi-ção de cicla-gem de proge-nitoras	Condi-ção de cicla-gem de proge-nitoras	Número absoluto de pro-genitoras por ml	Condi-ção de cicla-gem de proge-nitoras	Condi-ção de cicla-gem de proge-nitoras	Número absoluto de pro-genitoras por ml	Condi-ção de cicla-gem de proge-nitoras	Condi-ção de cicla-gem de proge-nitoras	Número absoluto de pro-genitoras por ml	Condi-ção de cicla-gem de proge-nitoras	Condi-ção de cicla-gem de proge-nitoras
T=0	281	0%	351	0%	0%	0%	138	0%	0%	460	0%	0%	101	0%	0%	101	0%	0%
T=1	1040	0%	806	0%	0%	0%	947	0%	0%	672	0%	0%	199	0%	0%	199	0%	0%
T=3	4233	1%	915	0%	0%	0%	2857	5%	5%	1195	9%	9%	519	0%	0%	519	0%	0%
T=6	5895	0%	1593	0%	0%	0%	3936	0%	0%	1533	0%	0%	920	8%	8%	920	0%	0%
T=9	2647	0%	1302	0%	0%	0%	1942	0%	0%	1348	0%	0%	457	0%	0%	457	0%	0%
T=24	402	0%	402	0%	0%	0%	208	5%	5%	362	3%	3%	99	0%	0%	99	0%	0%

Tabela 11 (continuação)

	CFU-GM		BFU-E P5		CFU-GEMM	
	Número absoluto de progenitoras por ml	Condição de ciclagem de progenitoras ras	Número absoluto de progenitoras por ml	Condição de ciclagem de progenitoras ras	Número absoluto de progenitoras por ml	Condição de ciclagem de progenitoras ras
T=0	169	0%	343	1%	55	0%
T=1	481	0%	730	0%	169	0%
T=3	1423	5%	1288	3%	244	0%
T=6	3454	0%	3208	1%	987	0%
T=9	1710	0%	1731	0%	526	0%
T=24	310	0%	495	0%	124	0%

Tabela 12

	Cultura de ÁGAR CFU-GM		Cultura de ÁGAR CFU-GM		Cultura de ÁGAR CFU-GM		Cultura de ÁGAR CFU-GM	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
	Nº abso- luto de células progenito- ras/ml	condição de ciclagem de progenito- ras	Nº abso- luto de células progenito- ras/ml	condição de ciclagem de progenito- ras	Nº abso- luto de células progenito- ras/ml	condição de ciclagem de progenito- ras	Nº abso- luto de células progenito- ras/ml	condição de ciclagem de progenito- ras
T=0	233	6%	100	0%	140	0%	124	0%
T=1	710	0%	376	0%	234	0%	336	0%
T=3	2070	0%	953	1%	1049	0%	1299	0%
T=6	4142	0%	2409	3%	1972	3%	1623	0%
T=9			1032	0%	1085	0%	1268	0%
T=24			371	0%	159	0%	162	0%

41 0001330

12

Os resultados para todos os cinco doadores foram muito coerentes com os aumentos em dobro máximos nos níveis circulantes de células progenitoras vistas 6 horas após injeção de AMD3100 a indivíduos doadores humanos. As células progenitoras estavam em um estado lento ou de não-ciclagem antes de e 1, 3, 6, 9 e 24 horas após injeção de AMD3100.

Exemplo 4

Células-tronco de Medula Óssea Mobilizadas para Reparo Miocárdico

Ratos adultos são anestesiados e realizar uma toracotomia é realizada. O ramo descendente da artéria coronária esquerda é ligada e não é reperfundido. Dentro de 4 a 6 horas após ligação os animais são injetados com diluição limite de AMD-3100 ou AMD-3100 mais rhG-CSF. Ratos de controle não são tratados com os reagentes. Os animais são monitorados em intervalos de uma semana por ecocardiografia e MRI. O experimento termina em 2, 6 a 12 semanas pós-cirurgia. No dia do sacrifício, as funções hemodinâmicas são analisadas quanto à pressão diastólica no terminal do ventrículo esquerdo, pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo e a taxa de elevação e queda da pressão do ventrículo esquerdo. O coração é a seguir suspenso em diástole e perfusado via aorta abdominal para jorrar sangue residual da rede vascular do miocárdio. A isto segue-se a perfusão do coração com formalina a 10%. São feitas várias fatias através do coração fixo e estas são embebidas em parafina e dissecadas. Os dissecados são manchados e analisados por microscopia óptica para se determinar a dimensão do infarto nos animais tratados e nos de controle. Tecido dissecado de corações retirados em 2 semanas após cirurgia são manchados com anticorpos específicos para miócitos imaturos, em desenvolvimento e proteínas de vaso sanguíneo, e analisados por microscopia confocal. A análise imuno-histoquímica envolve a identificação de fatores de transcrição e marcadores de superfície expressos em estágios primitivos de desenvolvimento de miócito. Os resultados deste experimento irão demonstrar que, quando o reagente AMD-3100 é administrado dentro de horas após a indução de isquemia cardíaca, juntamente com, ou sem rhG-CSF, este reagente mobiliza células-tronco de medula óssea rapidamente, e resultará em um bloqueio à

remodelagem cardíaca e formação de cicatriz, e conduzirá à regeneração do miocárdio morto.

REIVINDICAÇÕES

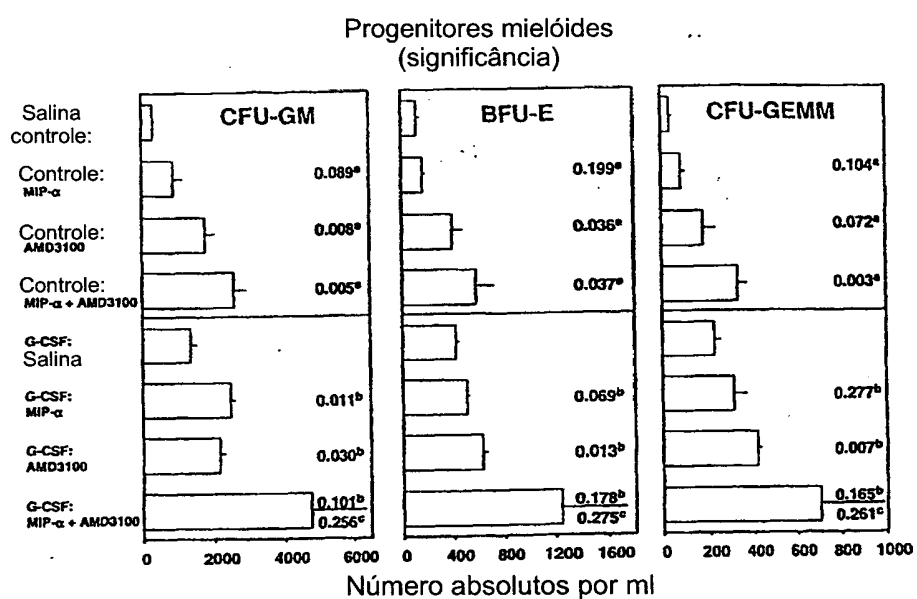
1. Uso de 1,1'-[1,4-fenileno-bis-(metileno)-bis-1,4,8,11-tetrazaciclotetradecano ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de ser na preparação de uma composição para
5 elevar a população de células progenitoras e/ou tronco para subsequente coleta das células progenitoras e/ou células-tronco.

2. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que 1,1'-[1,4-fenileno-bis-(metileno)-bis-1,4,8,11-tetrazaciclotetradecano está na forma de um sal de adição de ácido do mesmo.

10 3. Uso de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que o sal de adição de ácido é cloridrato.

4. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que as células progenitoras e/ou células-tronco são células progenitoras CD34+.

1/1



a= valor P comparado com controle/salina

b= valor P comparado com salina/G-CSF

c= valor P comparado com controle/MIP-1 α +AMD3100