



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA NUMERO	102000900856906
Data Deposito	23/06/2000
Data Pubblicazione	23/12/2001

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	C		
Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

USO DELL'ACIDO PAMOICO O DI UN SUO DERIVATO, O DI UN SUO ANALOGO, PER LA PREPARAZIONE DI UN MEDICAMENTO PER IL TRATTAMENTO DI PATOLOGIE CARATTERIZZATE DA DEPOSITI DI AGGREGATI AMILOIDEI.

La presente invenzione si riferisce all'uso dell'acido pamoico o di un suo derivato, o di un suo analogo, o di un loro sale farmaceuticamente accettabile, per la preparazione di un medicamento per il trattamento di patologie caratterizzate da depositi di aggregati amiloidei.

La presenza di depositi di amiloide e di alterazioni del citoscheletro neuronale sono tra le manifestazioni più evidenti della malattia di Alzheimer (AD). Questi due eventi, che interessano prevalentemente e precocemente la corteccia cerebrale, anche se il quadro patologico finale della malattia coinvolge l'intero sistema nervoso centrale, rappresentano una condizione necessaria, anche se non sufficiente, all'insorgenza della patologia (Chen M. (1998) *Frontiers in Bioscience* 3a, 32-37).

In generale, indipendentemente dalla proteina da cui è formata, la sostanza amiloide ha le caratteristiche di essere composta da fibre di 7-8 nm di diametro, di avere affinità per il Rosso Congo e di non essere solubile in acqua. Nell'AD le fibre di amiloide si accumulano esternamente alla cellula, negli spazi intracellulari cerebrali e nella tunica media delle arteriole corticali e meningei, configurando tre diverse alterazioni macroscopiche: le placche senili e le placche diffuse, che si differenziano tra loro per la presenza o meno di un'alterazione dei processi neuronali intorno al deposito centrale di amiloide, e l'angiopatia amiloidea, che è l'espressione della infiltrazione di fibre di amiloide nella parete delle arterie, tra le fibre muscolari lisce e la lamina elastica interna.

A parte la formazione di amiloide e di filamenti ad elica, nella corteccia dei soggetti affetti da AD è stata evidenziata una gravissima rarefazione sinaptica. Circa l'80%-90% dei contatti neuronali è distrutto nella fase finale della malattia e questa alterazione è il reale correlato patologico della demenza. Analizzando l'andamento della demenza, sembra certo che l'amiloide sia l'alterazione precoce e primaria della malattia e che i filamenti ad elica intraneuronali siano l'espressione intermedia della sofferenza dei neuroni che, infine, perdono i contatti sinaptici, con il conseguente effetto clinico del deterioramento delle funzioni mentali.

La forma solubile di un particolare tipo di β amiloide, la βA_{1-42} , finora ritenuta tossica solo nella sua forma aggregata, è implicata nella progressiva perdita della memoria e delle funzioni cognitive dei pazienti alzheimeriani. La βA_{1-42} , prodotta nella fase iniziale della malattia, sopprime l'attività della piruvato deidrogenasi che alimenta la sintesi di ACh provvedendo al trasporto dell'acetil-CoA, riducendo il rilascio del neurotrasmettitore, modificando le connessioni sinaptiche e causando i deficit colinergici responsabili della patologia (Hoshi M., Takashima A., Murayama M., Yasutake K., Yoshida N., Ishiguro K., Hoshino T., Imahori K. (1997) The Journal of Biological Chemistry 272:4, 2038-2041).

È noto che alcuni coloranti si legano alle fibre amiloidi in maniera specifica e tra questi il più importante è il Congo Red (CR) (Lorenzo A. and Yankner B.A, 1994 PNAS 91;12243-12247).

Questo colorante causa un aumento di birifrangenza delle fibre amiloidiche e determina un caratteristico dicroismo circolare indicativo di una specifica interazione tra il colorante e il substrato (le fibre) favorendo una rilevazione diagnostica delle amiloidosi nel
5 tessuto.

La proteina β amiloide (β A) deriva dall'azione proteolitica di alcuni enzimi specifici sul precursore della proteina amiloide (β APP) (Vassar R. et al. 1999 Science 286;735-740).

I meccanismi attraverso i quali il frammento β -amiloide può
10 indurre effetti neurotossici sono molteplici. In primo luogo gli studi immunoistochimici hanno evidenziato la presenza, nelle placche senili, di interleuchine dell'infiammazione (IL-1, IL-6), fattori del complemento, altri fattori infiammatori ed idrolasi lisosomiali. E' stato dimostrato che la proteina β -amiloide è in grado di stimolare la
15 sintesi e la secrezione di IL-1, IL-6 ed IL-8 da parte delle cellule microgliali e quindi di attivare i meccanismi citotossici dell'infiammazione acuta (Sabbagh M.N., Galasko D., Thal J.L. (1997) Alzheimer's Disease Review 3, 1-19).

Le patologie caratterizzate da depositi di aggregati amiloidei
20 includono, oltre al morbo di Alzheimer, la sindrome di Down, l'emorragia cerebrale ereditaria associata ad amiloidosi "Duch type", l'amiloidosi associata con infiammazione cronica, l'amiloidosi associata con il mieloma multiplo ed altre discrasie delle cellule linfoidi ematiche "B", l'amiloidosi associata al diabete di tipo II,
25 l'amiloidosi associata a malattie da prioni come la malattia di

Creutzfeldt-Jakob e la sindrome di Gerstmann-Straussler, il Kuru e la "scrapie" ovina.

In generale, comunque, i danni provocati dalla β A possono essere riassunti come:

- 5 1. alterazioni della amiloidogenesi;
2. aumento della vulnerabilità nei neuroni alla eccitotossicità;
3. aumento della vulnerabilità dei neuroni ai danni ipoglicemici;
4. alterazioni dell'omeostasi del calcio;
- 10 5. aumento dei danni ossidativi;
6. attivazione dei meccanismi infiammatori;
7. attivazione della microglia;
8. induzione delle proteasi lisosomiali;
9. alterazioni nella fosforilazione della proteina tau;
- 15 10. induzione dell'apoptosi;
11. danni alle membrane.

Da un punto di vista prettamente teorico, la riduzione del danno indotto da β A può essere affrontata con diversi approcci terapeutici:

- 20 1. riducendo la produzione della β A usando inibitori delle secretasi per alterare il metabolismo della APP (aumentando le α o riducendo le β e γ secretasi);
2. prevenendo o bloccando l'aggregazione della β A;
3. aumentando la clearance della β A;

4. bloccando gli effetti neurotossici della β A ripristinando l'omeostasi del calcio;

5. prevenendo la tossicità data dai radicali liberi;

6. prevenendo l'eccitotossicità;

5 7. riducendo il danno provocato dalla risposta infiammatoria;

8. correggendo l'alterato equilibrio tra zinco e rame;

9. inibendo l'apoptosi neuronale;

(Sabbagh M.N., Galasko D., Thal J.L. (1997) Alzheimer's Disease Review 3, 1-19).

10 Ad oggi non esiste una terapia specifica in grado di impedire, rallentare o arrestare il processo amiloidogenico alla base della malattia di Alzheimer.

Infatti, le terapie attualmente in uso per il trattamento di questa malattia sono esclusivamente sintomatiche e, anche se
15 agiscono su aspetti diversi, interferiscono fundamentalmente solo con i meccanismi neurotrasmettitoriali che regolano l'apprendimento e la memoria. Tra le molecole maggiormente impiegate figurano gli inibitori reversibili della acetilcolinesterasi, come la tacrina, il donepezil e la rivastigmina.

20 Al momento, inoltre, per la diagnosi della malattia di Alzheimer gli unici strumenti diagnostici disponibili sono rappresentati dagli esami comportamentali e dagli "score" clinici, mentre procedimenti radiografici o scintigrafici non riescono ancora a distinguere con precisione, proprio per mancanza di traccianti adatti, le
25 degenerazioni di tipo Alzheimer dagli altri fenomeni degenerativi.

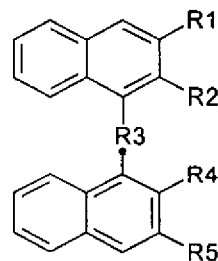
Le difficoltà che si incontrano nella cura della malattia di Alzheimer, la gravità di questa malattia e la difficile diagnosi della stessa, rendono auspicabile non solo l'identificazione di nuovi farmaci che siano capaci di curare o di rallentare il decorso della
5 patologia ma anche la scoperta di composti da utilizzare in procedimenti radiografici o scintigrafici per la sua diagnosi.

È quindi sorprendente il fatto che l'acido pamoico, o un suo derivato, o un suo analogo, o un loro sale farmaceuticamente accettabile, o i derivati dello stesso sopra descritti e noti in
10 letteratura, si siano mostrati farmaci potenzialmente efficaci nel trattamento e nella prevenzione del morbo di Alzheimer e delle patologie caratterizzate da depositi di aggregati amiloidei.

Nell'ambito di questa scoperta, sono stati trovati nuovi derivati dell'acido pamoico, sotto descritti, che si suppongono efficaci nel
15 trattamento delle patologie citate e che si sono rivelati agenti utili per la preparazione di un medicamento nel trattamento di patologie caratterizzate da depositi di aggregati amiloidei.

Infatti, dall'acido pamoico quei derivati di formula generale (I)

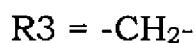
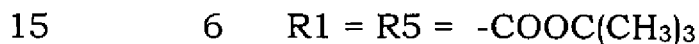
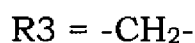
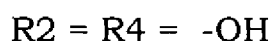
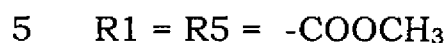
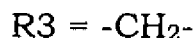
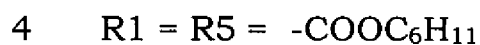
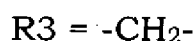
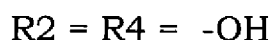
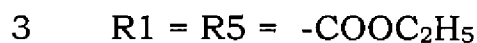
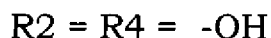
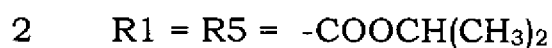
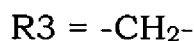
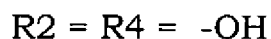
20



(I)

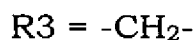
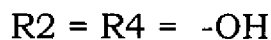
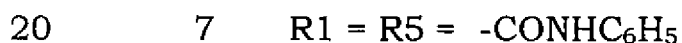
in cui:

1 R1 = R5 = -COOCH₂C₆H₅



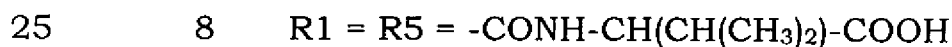
sono descritti nel brevetto N° ES 432416, e per questi composti

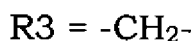
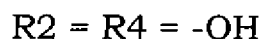
non viene descritto o rivendicato nessun uso;



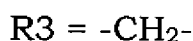
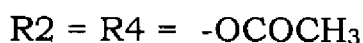
questo composto è descritto nel brevetto N° JP 7138347, come

agente utile per la preparazione di fibre di nylon;

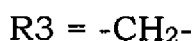
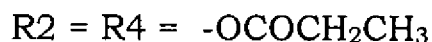




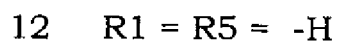
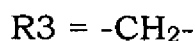
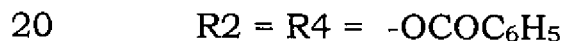
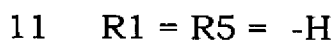
questo composto è descritto in Reetz, Manfred T. et al; Chem.
Commun, (Cambridge) (1998), (19), 2075-2076 come inibitore della
5 proteasi HIV-1;



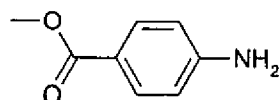
questo composto è descritto in Poupelin, Jean Pierre;
10 Eur.J.Med.Chem. -Chim.Ther. (1978), 13(4), 381-5, come agente ad
attività antiinfiammatoria;



15 questo composto è descritto nel brevetto N° DE 1945254, il
quale riporta che i sali di questo composto con la streptomina ne
rendono più duraturo l'effetto, come agente per il trattamento della
tubercolosi;



R2 = R4 =



5

R3 = -CH₂-

questi composti sono descritti in Dorogov, M.V.; Khim. Khim. Tekhnol. (1996), 39 (4-5), 170-172; non ne viene indicato alcun uso;

13 R1 = R5 = -H

R2 = R4 = -OCOCH=CH₂

10

R3 = -CH₂-

questo composto è descritto in Kielkiewicz, Jędrzej, et al.; Polimery (Warsaw) (1984), 29 (6), 216-19; non ne viene indicato alcun uso.

14 R1 = R5 = COOH;

15

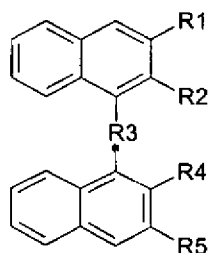
R2 = R4 = OH;

R3 = -CH₂-

questo composto è l'acido pamoico, esso viene descritto come agente utile come contro-ione in farmaci utilizzati come antielmintici (Pyrantel Pamoato) o nel trattamento del cancro (Octreotide Pamoato).

Oggetto della presente invenzione è quindi l'uso dell'acido pamoico o di un suo derivato, o di un suo analogo, o un loro sale farmaceuticamente accettabile, di formula generale (I)

25



(I)

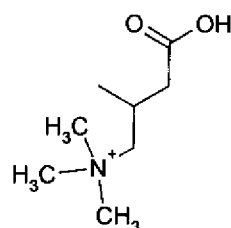
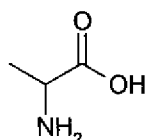
in cui:

R1 e R5 uguali o diversi rappresentano COOR6, CONHR6, SO₂R6, SO₂NHR6, SO₃R6, OR6, COR6, NHR6, R6;

in cui R6 rappresenta H oppure una catena alchilica, satura o
5 insatura, lineare o ramificata, da 1-5 atomi di carbonio, oppure fenile, eventualmente sostituiti con R7;

in cui: R7 rappresenta OH, COOH, SO₃H, NR8R9,

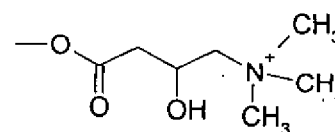
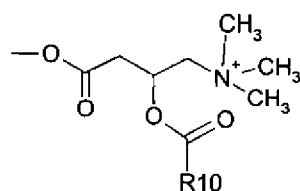
10



in cui:

R8 e R9 uguali o diversi rappresentano H, alchile da 1 a 5 atomi di carbonio;

R2 e R4 uguali o diversi rappresentano H, OH, NHR6, OCO-
20 R10-NR8R9,



in cui R10 rappresenta una catena alchilica, satura o
30 insatura, lineare o ramificata, da 1-5 atomi di carbonio;

R3 rappresenta -[CH₂]_n-, -CH₂-O-, -CH(R11)-,

in cui n rappresenta un numero intero compreso fra 1 e 4,

R11 rappresenta un alchile lineare o ramificato a 1-5 atomi di carbonio, eventualmente sostituito con un gruppo ammino, alchil ammino C₁-C₅, dialchil ammino C₁-C₅, OH, alchilossi C₁-C₅;

Tra i composti di formula (I) è preferito l'acido pamoico, in
5 particolare il pamoato di sodio.

È un ulteriore oggetto della presente invenzione l'uso dei composti di formula (I) sopra menzionati, per la preparazione di un kit diagnostico per la diagnosi di patologie caratterizzate da depositi di aggregati amiloidei.

10 Infatti, i composti secondo la presente invenzione possono contenere nella loro struttura molecolare atomi di elementi comunemente usati nella diagnostica per immagini. Ad esempio si possono introdurre nella loro struttura molecolare isotopi radioattivi del carbonio, dell'idrogeno, azoto, ossigeno, iodio e indio. E più
15 precisamente il composto di formula (I) potrà avere almeno uno degli elementi carbonio, idrogeno, azoto, ossigeno della propria struttura molecolare sostituito con un corrispondente isotopo radioattivo; oppure recherà almeno un atomo di iodio radioattivo; oppure esso è sotto forma di complesso con l'indio radioattivo.

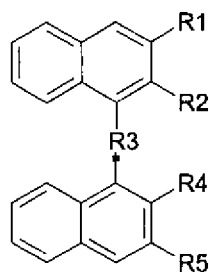
20 Tali isotopi sono utili per tecniche quali PET (Positron Emission Tomography), SPECT (Single Photon Emission Computerized Tomography), scintigrafia planare. In alternativa i composti secondo la presente invenzione contenenti o meno isotopi radioattivi o atomi di elementi utili come radioopachi (ad esempio
25 iodio), possono essere utilizzati come agenti complessanti per

elementi comunemente utilizzati in tecniche di diagnostica per immagine, quali ad esempio gadolinio (NMR), tecnezio (tecniche scintigrafiche).

Sulla base di questa applicazione diagnostica i composti secondo la presente invenzione sono utili anche per la prevenzione delle patologie sopra indicate.

Sono ulteriore oggetto della presente invenzione nuovi composti di formula generale (I)

10



(I)

in cui:

R1 e R5 uguali o diversi rappresentano COOR₆, CONHR₆, SO₂R₆, SO₂NHR₆, SO₃R₆, OR₆, COR₆, NHR₆, R₆;

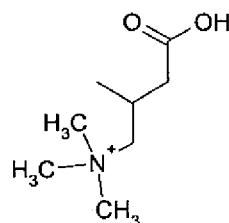
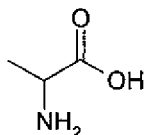
in cui:

R₆ rappresenta H oppure una catena alchilica, satura o insatura, lineare o ramificata, da 1-5 atomi di carbonio, oppure fenile, eventualmente sostituiti con R₇;

25

in cui:

R₇ rappresenta OH, COOH, SO₃H, NR₈R₉,

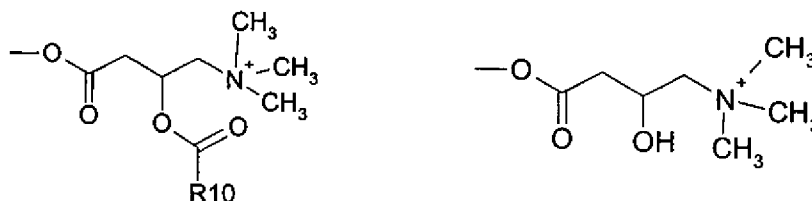


in cui:

R8 e R9 uguali o diversi rappresentano H, alchile da 1 a 5 atomi di carbonio;

R2 e R4 uguali o diversi rappresentano H, OH, NHR6, OCO-

5 R10-NR8R9,



in cui:

15 R10 rappresenta una catena alchilica, satura o insatura, lineare o ramificata, da 1-5 atomi di carbonio;

R3 rappresenta $-\text{[CH}_2\text{]}_n-$, $-\text{CH}_2\text{-O-}$, $-\text{CH(R11)-}$,

in cui n rappresenta un numero intero compreso fra 1 e 4,

20 R11 rappresenta un alchile lineare o ramificato a 1-5 atomi di carbonio, eventualmente sostituito con un gruppo ammino, alchil ammino C1-C5, dialchil ammino C1-C5, OH, alchilossi C1-C5;

con la condizione che i sostituenti R1, R2, R3, R4, ed R5 non rappresentano:

1 R1 = R5 = $-\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$

25 R2 = R4 = $-\text{OH}$

R3 = $-\text{CH}_2-$

2 R1 = R5 = $-\text{COOCH}(\text{CH}_3)_2$

R2 = R4 = $-\text{OH}$

R3 = $-\text{CH}_2-$

3 R1 = R5 = -COOC₂H₅

R2 = R4 = -OH

R3 = -CH₂-

4 R1 = R5 = -COOC₆H₁₁

5 R2 = R4 = -OH

R3 = -CH₂-

5 R1 = R5 = -COOCH₃

R2 = R4 = -OH

R3 = -CH₂-

10 6 R1 = R5 = -COOC(CH₃)₃

R2 = R4 = -OH

R3 = -CH₂-

7 R1 = R5 = -CONHC₆H₅

R2 = R4 = -OH

15 R3 = -CH₂-

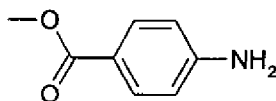
11 R1 = R5 = -H

R2 = R4 = -OCOC₆H₅

R3 = -CH₂-

12 R1 = R5 = -H

R2 = R4 =



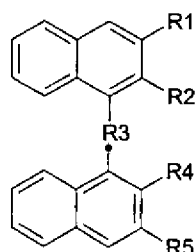
R3 = -CH₂-

13 R1 = R5 = -H

25 R2 = R4 = -OCOCH=CH₂

R3 = -CH₂- .

Un ulteriore oggetto della presente invenzione è un procedimento per la preparazione di composti di formula generale (I)



(I)

in cui:

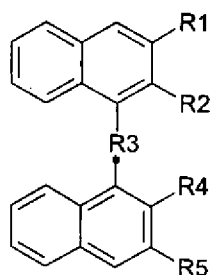
R1 e R5 rappresentano -COOR6,

in cui R2, R3, R4, ed R5 hanno i significati precedentemente definiti,

caratterizzato dal fatto che un composto di formula generale (I) in cui R6 rappresenta H, viene trattato con un agente alogenante, quale SOCl₂, PCl₅, a dare il corrispondente cloruro acilico, quindi fatto reagire ad una temperatura compresa tra 25 e 60°C per tempi compresi tra 2 e 24 ore, sotto agitazione con un rapporto da 1 a 6 molare di alcol R6-OH, oppure in un solvente anidro inerte, come ad esempio dimetilformammide, con la quantità stechiometrica di R6-OH.

Un ulteriore oggetto della presente invenzione è un procedimento per la preparazione di composti di formula (I)

5



10

(I)

in cui R1 e R5 rappresentano CONHR6;

in cui R2, R3, R4 ed R6 hanno i significati precedentemente definiti,

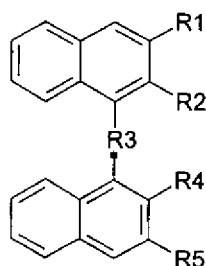
15

caratterizzato dal fatto che, un composto di formula generale (I) in cui R6 rappresenta H, viene trattato con un agente alogenante quale SOCl₂, PCl₅, a dare il corrispondente cloruro acilico, oppure con un agente copulante quale DCC, EEDQ, quindi fatto reagire ad una temperatura compresa tra 25 e 60°C, per tempi compresi tra 2 e 24 ore, sotto agitazione, con un rapporto da 1 a 6 molare di ammina R6-NH₂, oppure in un solvente anidro inerte con la quantità stechiometrica di R6-NH₂.

20

Un ulteriore oggetto della presente invenzione è un procedimento di preparazione di composti di formula (I)

30



(I)

35

in cui R2 e R4 rappresentano OH;

in cui R1 e R5 rappresentano SO_3R_6 , SO_2NHR_6 ;

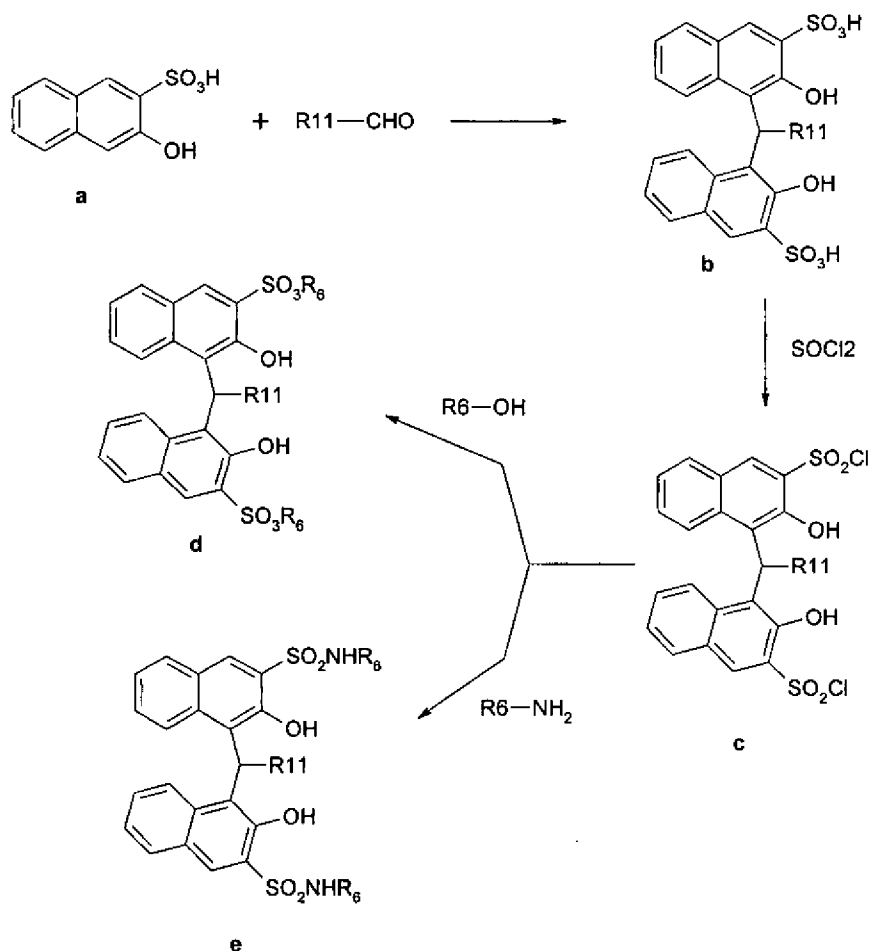
R3 rappresenta $-\text{CH}(\text{R}_{11})-$,

in cui R11 ha il significato precedentemente indicato;

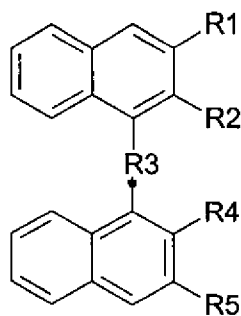
caratterizzato dal fatto che tale procedimento viene effettuato

5 secondo il seguente schema di reazione 1, dove un composto di formula "a" viene fatto reagire con un aldeide $\text{R}_{11}\text{-CHO}$ in acido acido acetico glaciale ad una temperatura compresa tra 90°C e 150°C per dare i composti di formula generale "b". Successivamente un composto di formula generale "b" viene trattato con un agente
10 alogenante, quale SOCl_2 o PCl_5 , a dare il corrispondente cloruro di solfonile, quindi fatto reagire con un alcool $\text{R}_6\text{-OH}$ a dare i composti di formula generale "d" oppure con un ammina R_6NH_2 a dare i composti di formula generale "e".

Schema 1



Un ulteriore oggetto della presente invenzione è un
5 procedimento di preparazione di composti di formula (I)



(I)

in cui R₁, R₂, R₄ e R₅ rappresentano OR₆ e/o NHR₆ ;
R₃ rappresenta -CH(R₁₁)-,

in cui R6 e R11 hanno i significati precedentemente indicati;

caratterizzato dal fatto che tale procedimento viene effettuato secondo il seguente **schema di reazione 2** dove un composto di

formula A viene fatto reagire con l'aldeide R11-CHO in ambiente

5 acido, ad esempio in acido acetico, per dare una miscela di composti

corrispondenti alle strutture B, C e D che vengono separati e

purificati mediante cromatografia. Ciascuno dei composti B, C e D

viene fatto reagire con un gruppo protettore selettivo per l'ossidril

fenolico, ad esempio trimetil-silil-cloruro, in adatto solvente, ad

10 esempio CH_2Cl_2 . Successivamente si tratta con un gruppo

proteggente l'ammina, ad esempio con tritil-cloruro, a dare il

corrispondente N-tritil derivato. Dopo trattamento con MeOH a

caldo, ad esempio 60°C , si ha la formazione dei composti E, F e G.

Tali composti vengono messi a reagire con un alogenuro alchilico

15 R6-X in presenza di una base e poi vengono deprotetti in ambiente

acido a dare i corrispondenti naftil-eteri H, I e L. Dopo trattamento di

questi ultimi con NaNO_2 in acido solforico si ottengono i composti

M, N e O.

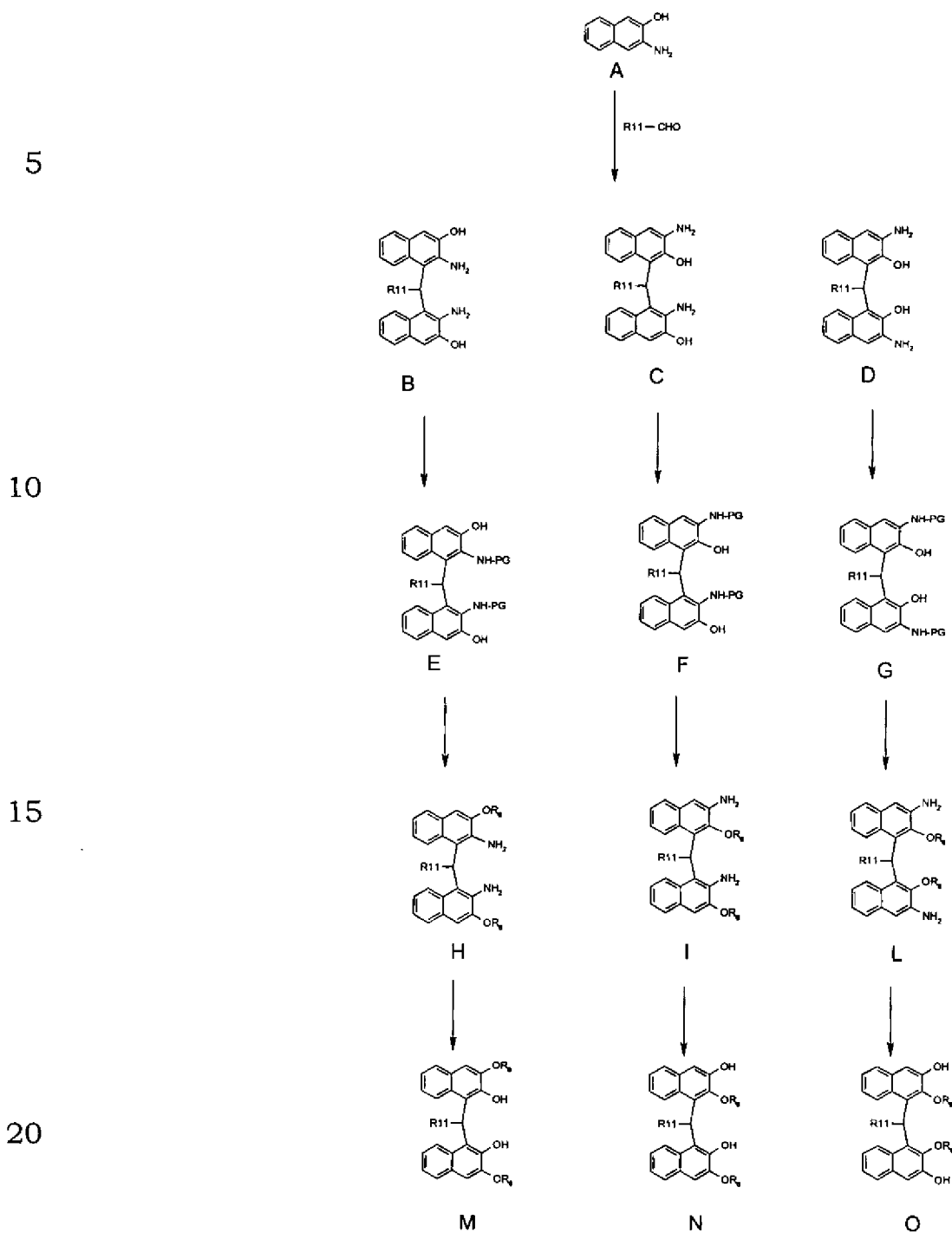
20

25

./.

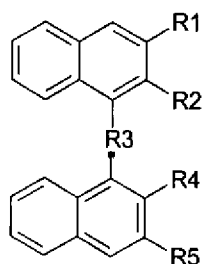
Schema 2

PG= gruppo protettore



Un ulteriore oggetto della presente invenzione è una
composizione farmaceutica comprendente come principio attivo un
25 composto di formula generale (I)

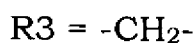
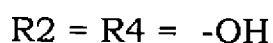
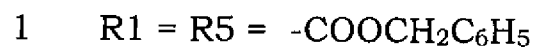
10



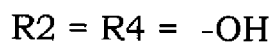
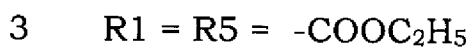
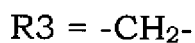
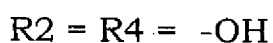
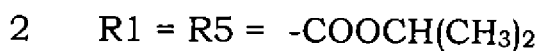
(I)

in cui R1, R2, R3, R4, ed R5 hanno i significati precedentemente definiti,

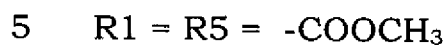
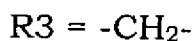
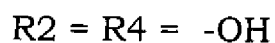
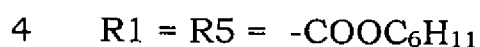
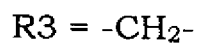
15 con la condizione che R1, R2, R3, R4, ed R5 non rappresentano:



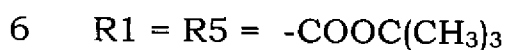
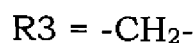
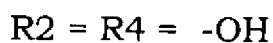
20



25



30



R2 = R4 = -OH

R3 = -CH₂-

7 R1 = R5 = -CONHC₆H₅

R2 = R4 = -OH

5 R3 = -CH₂-

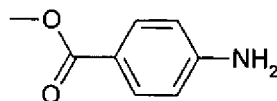
11 R1 = R5 = -H

R2 = R4 = -OCOC₆H₅

R3 = -CH₂-

12 R1 = R5 = -H

R2 = R4 =



R3 = -CH₂-

13 R1 = R5 = -H

15 R2 = R4 = -OCOCH=CH₂

R3 = -CH₂-

ed un eccipiente e/o diluente farmaceuticamente accettabile.

Vengono di seguito riportati alcuni esempi che illustrano ulteriormente l'invenzione.

20

ESEMPIO 1

Preparazione di (2R)-2-(acetilossi)-4-({3-carbossi-1-[(3-carbossi-2-idrossi-1-naftil)metil]-2-naftil}ossi)-N,N,N-trimetil-4-oxo-1-butanaminio cloruro (ST1722)

25 Una soluzione di 2,39 g (0,01 moli) di acetil L-carnitina cloruro, 2 ml di CH₂Cl₂ anidro, 1,1 ml (0,015 moli) di cloruro di tionile venne agitata a temperatura ambiente per 4h. Il solvente venne rimosso e il solido residuo lavato 3 volte con CH₂Cl₂ anidro. Si

ottenne un olio: il cloruro acilico dell'acetil L-carnitina cloruro, che venne utilizzato tal quale per il passaggio successivo.

Una sospensione di 2,39 g (0,01 moli) di cloruro acilico dell'acetil L-carnitina cloruro, 3,88 g (0,01 moli) di acido pamoico e
5 10 ml di N-metil-2-pirrolidinone fu messa sotto agitazione per una notte. Dopo precipitazione con etere etilico si ottenne un solido giallo (7 g). Il grezzo così ottenuto venne purificato per cromatografia su colonna di gel di silice, eluendo prima con CH₂Cl₂ - MeOH 90:10 per raccogliere l'acido pamoico non reagito e poi con CH₂Cl₂ - MeOH
10 85:15 per raccogliere il prodotto. Dopo rimozione del solvente si ottennero 1,2 grammi di (2R)-2-(acetilossi)-4-((3-carbossi-1-[(3-carbossi-2-idrossi-1-naftil)metil]-2-naftil)ossi)-N,N,N-trimetil-4-oxo-1-butanaminio cloruro.

Resa = 19,7%, P.F. = decompone a 185°C, $[\alpha]_D^{20} = -17,5^\circ$,

15 ¹H-NMR-(DMSO, 300 MHz), δ 8.48 (d, 2H), 8.37 (d, 1H), 8.08 (d, 1H), 7.91 (d, 1H), 7.75 (d, 1H), 7.56 (m, 2H), 7.33 (m, 1H), 7.12 (m, 1H), 5.50 (m, 1H), 4.76 (s, 2H), 3.70 (m, 2H), 3.11 (s, 9H), 2.85 (m, 2H), 2.01 (s, 3H).

K.F. = 1.4 %

20 valori C, H, N calcolati per C₃₂H₃₂NO₉Cl e corretti per la quantità di acqua presente: C, 62,12; H, 5,37; N, 2,26; trovati C, 60,45; H, 5,83; N, 2,87.

ESEMPIO 2

Valutazione dell'attività antiaggregante del pamoato di sodio
sul peptide β Amiloide 25-35.

A 250 μ l di una soluzione costituita da pamoato di sodio 2 mM
5 e tampone fosfato 200 mM pH 5, vennero aggiunti 250 μ l di una
soluzione acquosa di β A 25-35 2mM (cat. Bachem n° H-1192.0001). Si
ottennero così 500 μ l di una soluzione di pamoato di sodio 1 mM,
 β A₂₅₋₃₅ 1 mM e tampone fosfato 100 mM pH 5.

La stessa procedura venne eseguita per il campione di
10 controllo dove non era presente il pamoato di sodio

Dopo 24 ore a temperatura ambiente il campione e il controllo
vennero centrifugati a 12000 rpm per 20 minuti separando i fondelli
dai surnatanti. Ai fondelli vennero aggiunti 250 μ L di acqua. Dopo 3
ore a temperatura ambiente i campioni vennero di nuovo centrifugati
15 a 12000 rpm per 20 minuti. Dopo centrifugazione nel campione, a
differenza del controllo, non venne osservata la presenza di solido.
Questo risultato dimostrò la completa inibizione dell'aggregazione
del peptide β A₂₅₋₃₅ in fibrille da parte del pamoato di sodio.

20

25

Esempio 3

Valutazione dell'attività antiaggregante del pamoato di sodio sul peptide β Amiloide 1-42.

L'attività antiaggregante del pamoato di sodio sul peptide β A₁₋₄₂ venne effettuata mediante il "binding" della tioflavina T seguendo la seguente procedura.

Il peptide β A₁₋₄₂ (cat. Bachem n°H-1368.0500) ad una concentrazione di 0,22 mM, venne incubato a 37°C in tampone Tris 100 mM pH 7,4, da solo o in presenza di pamoato di sodio, per 5 giorni. Il rapporto molare fra il peptide e il pamoato di sodio era generalmente di 1:8, 1:4 e 1:2.

La soluzione venne centrifugata a 13000 rpm per 5 minuti e il sopranatante venne eliminato. Si lavò il precipitato con 500 μ l di H₂O e si centrifugò a 13000 rpm per 5 minuti. Nel precipitato l'aggregato in forma fibrillare venne evidenziato con 600 μ l di tioflavina T (ThT) 2 μ M sciolta in tampone glicina-NaOH 50 mM; pH 9,4. Dopo 5 minuti di incubazione 500 μ l dei campioni vennero trasferiti in una cuvetta di quarzo e il segnale fluorimetrico venne determinato a una eccitazione di 420 nm e una emissione di 480 nm in spettrofotofluorimetro. In queste condizioni il segnale fluorimetrico è proporzionale alla quantità di amiloide aggregato (Le Vine, Methods in Enzymology, vol.309 pag 274-284).

Il pamoato di sodio, in questo esperimento, si dimostrò in grado di ridurre, consistentemente ed in maniera dose-dipendente la

formazione di aggregati in forma fibrillare di amiloide βA_{1-42} . L'effetto è significativo, e raggiunge il 70% rispetto al controllo.

L'inibizione della fibrillogenesi è stata misurata anche in funzione del tempo di incubazione. Il pamoato di sodio, passando da
5 1 a 5 giorni di co-incubazione aumenta progressivamente la propria efficacia nel ridurre il binding della tioflavina T.

Esempio 4

Dissoluzione di aggregati in forma fibrillare di β -amiloide $_{1-42}$ preformate, da parte del pamoato di sodio

10 Questo esperimento è stato effettuato per valutare la capacità disaggregante del pamoato di sodio su peptide βA_{1-42} precedentemente aggregato, seguendo la seguente procedura.

Il peptide βA_{1-42} venne lasciato aggregare per 48 ore a 37°C nelle condizioni riportate nell'esempio 2. Venne aggiunto il pamoato
15 di sodio, (rapporto peptide/pamoato 1:8).

In queste condizioni il pamoato di sodio risultò estremamente attivo nel ridurre il binding della tioflavina T.

L'incubazione con pamoato di sodio portò ad una riduzione della fluorescenza pari al 70% rispetto al controllo senza pamoato di
20 sodio.

Questo risultato dimostrò che il pamoato di sodio fu in grado di disaggregare a posteriori la struttura fibrillare del βA_{1-42} dell'amiloide.

Esempio 5

Diminuzione della resistenza del peptide β -amiloide₁₋₄₂ alla digestione della tripsina indotta dal pamoato di sodio

Il peptide β A₁₋₄₂ venne sciolto con 15 μ l di NaOH 0,1 M, la
5 soluzione venne portata a pH 7,4 con 15 μ l di tampone TRIS 100
mM a cui vennero aggiunti 30 μ l di solo tampone o 30 μ l della
soluzione di tampone contenente pamoato di sodio. La
concentrazione finale del peptide β A₁₋₄₂ era di 0,22 mM, e quella del
pamoato di sodio era compresa fra 0,055 e 1,76 mM; quindi in un
10 rapporto peptide β A₁₋₄₂/pamoato di sodio compreso fra 4:1 e 1:8.

I campioni così preparati vennero incubati a 37°C per 5 giorni,
in queste condizioni il peptide β A₁₋₄₂ formò aggregati in forma
fibrillare modificando la sua struttura da random-coil a β -sheet
(Zagorski M.G. et al. 1999 "Methodological and Chemical Factors
15 Affecting Amyloid β Peptide Amyloidogenicity" Methods in
Enzymology 309:189-204). Dopo 5 giorni d'incubazione vennero
aggiunti ad ogni campione 24 μ g di tripsina (Merck), agitati e
centrifugati per 1 minuto a 13000 rpm, i campioni vennero quindi
lasciati in incubazione a 37°C per 1 h.

20 Trascorso questo periodo si centrifugò per 5 minuti a 13000
rpm, eliminando 50 μ l di sopranatante e il precipitato venne sciolto
con 40 μ l di HCOOH e 10 μ l di H₂O contenente lo 0,1% di acido
trifluoroacetico (TFA).

Il campione a questo punto era pronto per l'analisi quantitativa
25 in HPLC. Il profilo HPLC del campione incubato con il pamoato di

sodio venne comparato a quello ottenuto con il solo peptide quantificando in tal modo il peptide βA_{1-42} .

La tripsina, nelle condizioni sopra riportate fu in grado di idrolizzare il peptide βA_{1-42} tra il 30% e il 50%. L'idrolisi da tripsina del βA_{1-42} venne aumentata dal pamoato di sodio di oltre il 50% alla dose più alta (rapporto peptide/pamoato 1:8) e di oltre il 40% alla dose inferiore (1:4).

Esempio 6

Inibizione della neurotossicità indotta dal β -amiloide₂₅₋₃₅ da parte del pamoato di sodio

Per verificare la potenziale attività neuroprotettiva del pamoato di sodio vennero utilizzate colture neuronali primarie di corteccia ottenute per microdissezione dell'encefalo di feto di ratto al 16°-18° giorno di gestazione. Il tessuto cerebrale venne coltivato in presenza di siero bovino fetale e la proliferazione gliale venne inibita aggiungendo al mezzo di incubazione l'antimitotico citosina arabinoside al 3° e 5° giorno (Andreoni et al. 1997 Exp. Neurology 148:281-287). Le colture cellulari vennero esposte ai peptidi βA_{25-35} per 5-7 giorni in presenza o meno del pamoato di sodio. L'azione neuroprotettiva venne valutata in condizioni di neurotossicità indotta da acido kainico per verificare la specificità d'azione del pamoato di sodio e la sua effettiva attività anti-aggregante nei confronti dell'agente neurotossico. La capacità del pamoato di sodio di proteggere le cellule dalla degenerazione venne infine valutata anche in cellule neuronali coltivate in assenza di siero bovino fetale

dal mezzo di coltura. In questo caso, 24h dopo la semina il mezzo venne sostituito con uno senza siero contenente glutamina, insulina, transferrina, putrescina, progesterone, selenito di sodio ed HEPES.

Procedura sperimentale

- 5 Colture primarie di neuroni della corteccia cerebrale vennero prelevati dall'encefalo fetale di ratto al 16°-18° giorno di gestazione, e coltivati in siero bovino fetale. Al 3° e al 5° giorno di incubazione venne inibita la proliferazione gliale, utilizzando citosina arabinoside come antimitotico.
- 10 Le colture vennero esposte al peptide βA_{25-35} a concentrazioni 25 e 50 μM dal giorno successivo alla semina per 5-7 giorni;
 il peptide βA_{25-35} venne aggiunto alle colture insieme al pamoato di sodio che aveva concentrazioni equimolari o inferiori a quelle del peptide stesso.
- 15 La protezione dalla neurotossicità venne valutata con metodo colorimetrico ed analisi densitometrica con analizzatore di immagine.
- I risultati ottenuti mostrano che il pamoato di sodio fu in grado di proteggere completamente dalla tossicità indotta dalla βA_{25-35} , i
- 20 risultati ottenuti sono riportati in Tabella

TABELLA 1

Controllo	βA_{25-35} 50 μM	Pamoato di sodio 25 μM	Pamoato di sodio 25 μM + βA_{25-35} 50 μM
% S	% S	% S	% S
100	16	88	100

% S: per cento di sopravvivenza

ESEMPIO 7

5 Riduzione dell'apoptosi di granuli cerebellari indotta da
deprivazione di K⁺, da parte del pamoato di sodio

Granuli isolati dal cervelletto di ratto a 8 giorni di età si differenziano biochimicamente e morfologicamente in circa una settimana diventando morfologicamente maturi e con fenotipo di interneurone glutamatergico (Gallo et al. 1982 PNAS 79:7919-7923).
10 Deprivando il terreno di coltura del siero e riducendo la concentrazione extracellulare di ioni potassio (25 mM) fino a portarla ad una condizione non depolarizzante (5 mM), si ottenne, in circa 24 ore, la morte per apoptosi delle cellule.

15 La morte neuronale programmata è un fenomeno evidenziato, oltre che in numerosi processi fisiologici, anche in molte patologie neurodegenerative come l'AD, il Parkinson, la Corea di Huntington e la Sclerosi Laterale Amiotrofica. Nel caso dell'AD si evidenzia l'esistenza di una stretta relazione tra apoptosi, presenza di βA e
20 mutazione del gene della presenilina 2 (PS2) che regola la produzione dell'amiloide stessa. Infatti, nei casi di AD in cui è presente una mutazione del PS2 si evidenzia anche un classico

aumento cerebrale e plasmatico di βA_{1-42} (Scheuner D., Eckman C., Jensen M., Song X., Citron M., Suzuki N., Bird T.D., Hardy J., Hutton M., Kukull W., Laeson E., Levy-Lahad E., Viitanen M., Peskind E., Selkoe D., Yunkin S. (1996) Nat. Med. 2, 864-870.);
5 inoltre, la forma mutata del gene PS2, espressa nelle PC12, provoca apoptosi (Wolozin B., Iwasaki K., D'Adamio L. (1996) Science 274, 1710-1713).

Questo modello sperimentale permise di ottenere un sistema di produzione "autoalimentante" di βA dove l'apoptosi neuronale dei
10 granuli del cervelletto provocò modificazioni nel processamento del precursore amiloideo APP, tali da rendere preferenziale il percorso del metabolismo amiloidogenico. L'aumento dei livelli di βA , a sua volta, favorisce la morte cellulare programmata. In questo contesto sperimentale la potenziale efficacia delle sostanze in studio venne
15 misurata in termini di sopravvivenza cellulare a tempi determinati (24, 48 e 72 ore) dalla riduzione di KCl nel mezzo.

Procedura sperimentale

Colture primarie di granuli cerebellari di ratto di 8 giorni di età, mantenute in un mezzo di coltura in cui è presente KCl 25 mM,
20 dopo 6 g in coltura le cellule vennero marcate con ^{35}S -metionina.

Venne indotta l'apoptosi con deprivazione del siero e riduzione della concentrazione di KCl da 25mM a 5mM.

Questa situazione rappresentava, "in vitro", la condizione di deafferentazione neuronale ovvero la resezione delle ramificazioni

dendritiche ed assonali in arrivo ed in partenza dalle cellule del tessuto nervoso.

A seguito dell'apoptosi si verificò una sovrapproduzione di β A.

Le colture vennero incubate con il pamoato di sodio a
5 concentrazioni da $1\mu\text{M}$ a $100\mu\text{M}$.

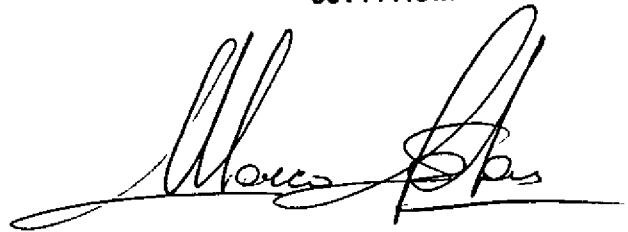
La protezione dalla tossicità, in termini di vitalità delle cellule venne valutata a 24, 48 e 72 ore.

Risultati

I risultati ottenuti in questo esperimento hanno mostrato che il
10 pamoato di sodio, ad una concentrazione pari a $10\mu\text{M}$, ha un effetto
protettivo (89% di protezione) dai danni indotti dalla amiloide
formatasi durante il processo apoptotico.

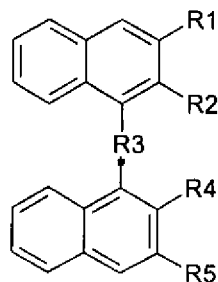
23 GIU. 2000

SIGMA TAU
IND. FARM. RIUNITE S.p.A.
Viale Shakespeare, 47
00144 ROMA



RIVENDICAZIONI

1. Composto di formula generale (I)



(I)

in cui:

R1 e R5 uguali o diversi rappresentano COOR6, CONHR6, SO₂R6, SO₂NHR6, SO₃R6, OR6, COR6, NHR6, R6;

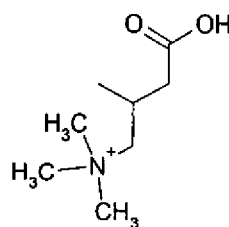
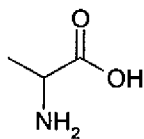
in cui:

R6 rappresenta H oppure una catena alchilica, satura o insatura, lineare o ramificata, da 1-5 atomi di carbonio, oppure fenile, eventualmente sostituiti con R7;

in cui:

R7 rappresenta OH, COOH, SO₃H, NR₈R₉,

oppure

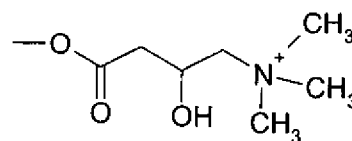
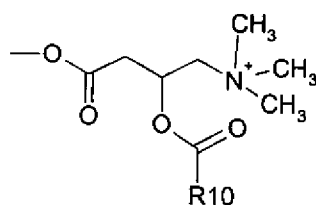


in cui:

R8 e R9 uguali o diversi rappresentano H, alchile da 1 a 5 atomi di carbonio;

R2 e R4 uguali o diversi rappresentano H, OH, NHR6, OCO-R10-NR₈R₉

RM2000 A 000340



in cui:

R10 rappresenta una catena alchilica, satura o insatura, lineare o ramificata, da 1-5 atomi di carbonio;

10 R3 rappresenta $-\text{[CH}_2\text{]}_n-$, $-\text{CH}_2-\text{O}-$, $-\text{CH(R11)-}$,

in cui n rappresenta un numero intero compreso fra 1 e 4,

R11 rappresenta un alchile lineare o ramificato a 1-5 atomi di carbonio, eventualmente sostituito con un gruppo

15 ammino, alchil ammino C1-C5, dialchil ammino C1-C5, OH, alchilossi C1-C5; e suoi sali farmaceuticamente accettabili;

con la condizione che i sostituenti R1, R2, R3, R4, ed R5 non rappresentano:

1 R1 = R5 = $-\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$

20 R2 = R4 = $-\text{OH}$

R3 = $-\text{CH}_2-$

2 R1 = R5 = $-\text{COOCH(CH}_3)_2$

R2 = R4 = $-\text{OH}$

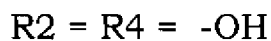
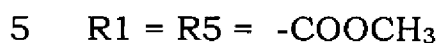
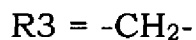
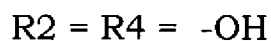
R3 = $-\text{CH}_2-$

25 3 R1 = R5 = $-\text{COOC}_2\text{H}_5$

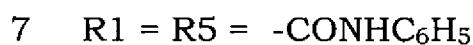
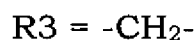
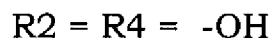
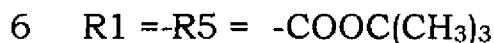
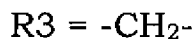
R2 = R4 = $-\text{OH}$

R3 = $-\text{CH}_2-$

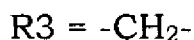
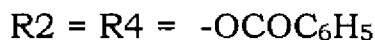
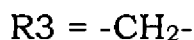
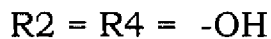
4 R1 = R5 = $-\text{COOC}_6\text{H}_{11}$



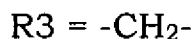
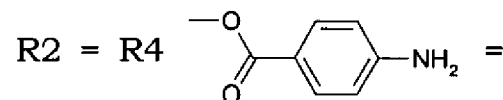
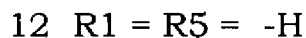
5



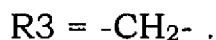
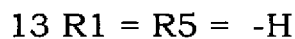
10



15



20

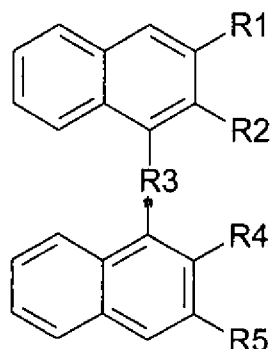


2. (2R)-2-(acetilossi)-4-((3-carbossi-1-[(3-carbossi-2-idrossi-1-naftil)metil]-2-naftil)ossi)-N,N,N-trimetil-4-oxo-1-butanaminio cloruro.

25

3. Composto della rivendicazione 1 o 2, per uso come medicamento.

4. Procedimento per la preparazione di composti di formula generale (I)



10

15

(I)

in cui:

R1 e R5 rappresentano -COOR6,

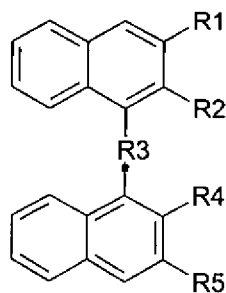
in cui R2, R3, R4, ed R5 hanno i significati definiti nella rivendicazione 1,

20

caratterizzato dal fatto che un composto di formula generale (I) in cui R6 rappresenta H, viene trattato con un agente alogenante, a dare il corrispondente cloruro acilico, il quale viene fatto reagire, sotto agitazione, con un rapporto da 1 a 6 molare di alcol R6-OH, oppure in un solvente anidro inerte, con la quantità stechiometrica di R6-OH.

25

5. Procedimento per la preparazione di composti di formula (I)



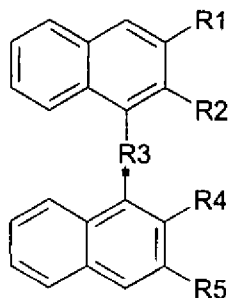
30

(I)

in cui R1 e R5 rappresentano CONHR6;

in cui R2, R3, R4 ed R6 hanno i significati definiti nella rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che, un composto di formula generale (I) in cui R6 rappresenta H, viene trattato con un agente alogenante, a dare il corrispondente cloruro acilico, oppure con un agente copulante, e fatto reagire sotto agitazione, con un rapporto da 1 a 6 molare di ammina R6-NH₂, oppure in un solvente anidro inerte con la quantità stechiometrica di R6-NH₂.

10 6. Procedimento per la preparazione di composti di formula (I)



20

(I)

in cui R2 e R4 rappresentano OH;

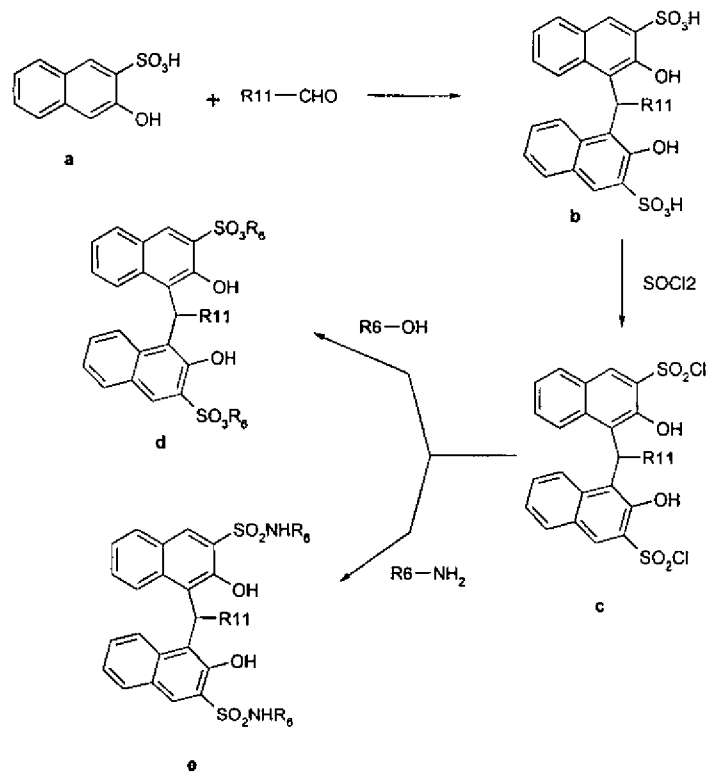
in cui R1 e R5 rappresentano SO₃R6, SO₂NHR6;

R3 rappresenta -CH(R11)-;

25 in cui R6 e R11 hanno i significati indicati nella rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che tale procedimento viene effettuato secondo il seguente schema di reazione, dove un composto di formula "a" viene fatto reagire con un aldeide R11-CHO in acido acetico glaciale ad
30 una temperatura compresa tra 90°C e 150°C a dare

composti di formula generale "b"; successivamente un composto di formula generale "b" viene trattato con un agente alogenante, a dare il corrispondente cloruro di solfonile, e fatto reagire con un alcool R6-OH a dare i composti di formula "d", oppure con una ammina R6NH₂ a dare composti di formula "e"

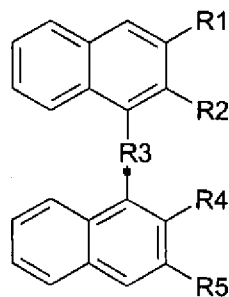
5



10

7. Procedimento per la preparazione di composti di formula (I)

15



(I)

in cui R1, R2, R4 e R5 rappresentano OR6 e/o NHR6 ;

R3 rappresenta -CH(R11)-,

in cui R6 e R11 hanno i significati definiti nella
rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che tale

5 procedimento viene effettuato secondo il seguente schema

di reazione dove un composto di formula A viene fatto
reagire, in ambiente acido, con l'aldeide R11-CHO, a dare
una miscela di composti corrispondenti alle strutture B, C e

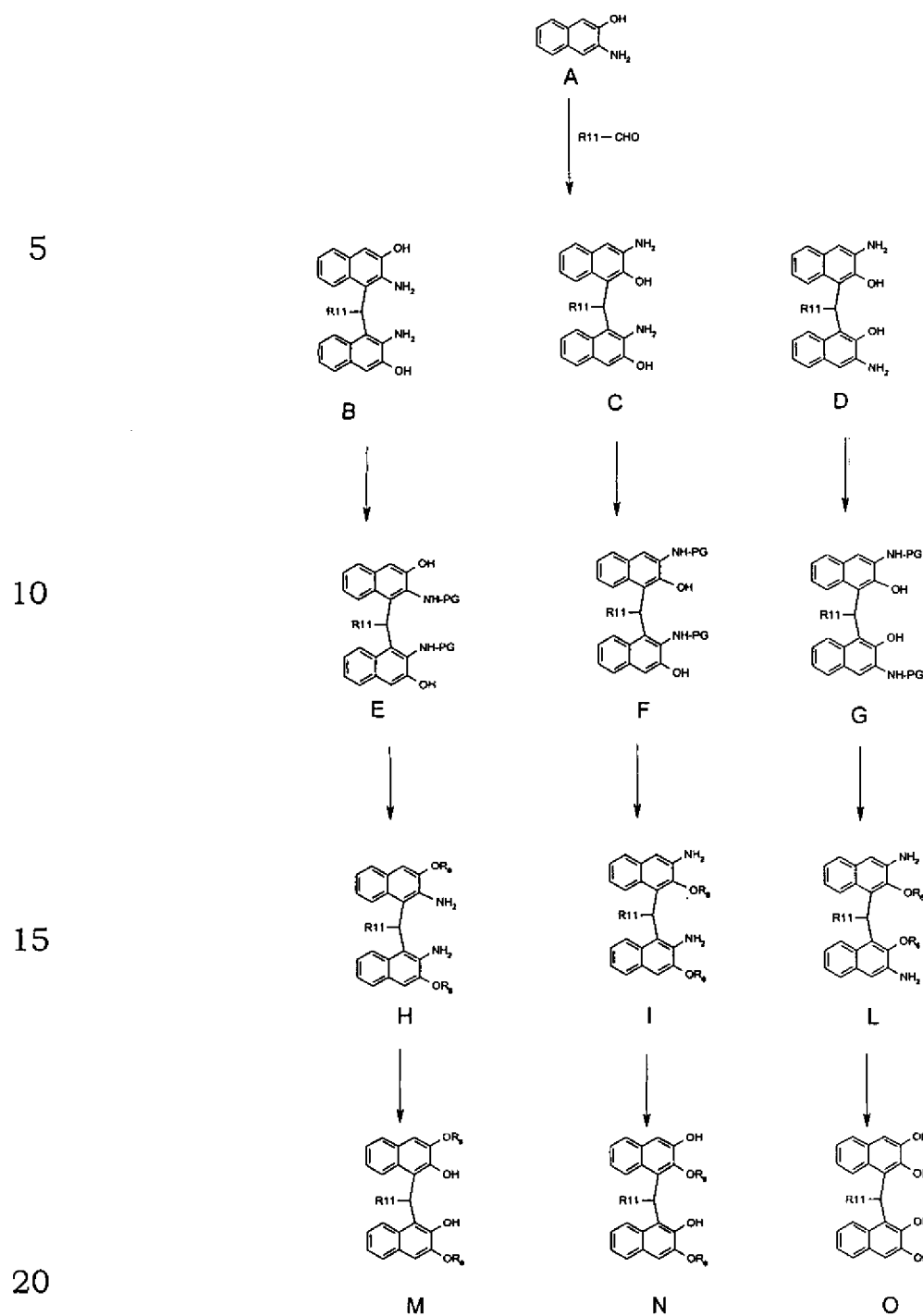
10 D; che vengono separati, purificati e fatti reagire con un
gruppo protettore selettivo per l'ossidrile fenolico, in un
adatto solvente; le miscele così ottenute vengono trattate

con un gruppo proteggente l'ammina, a dare il
corrispondente N-tritil derivato; dopo trattamento a caldo
con MeOH, si ha la formazione dei composti E, F e G, tali

15 composti vengono fatti reagire con un alogenuro alchilico
R6-X in presenza di una base e successivamente vengono
deprotetti in ambiente acido a dare i corrispondenti naftil-

eteri H, I e L; dopo trattamento di questi ultimi con NaNO₂
in acido solforico si ottengono i composti M, N e O.

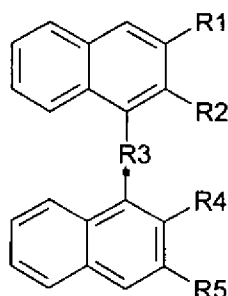
PG= gruppo protettore



8. Composizione farmaceutica comprendente come principio attivo un composto della rivendicazione 1 o 2, ed almeno un eccipiente e/o diluente farmaceuticamente accettabile.

9. Uso dell'acido pamoico o di un suo derivato o un loro sale farmaceuticamente accettabile di formula generale (I)

10



(I)

in cui:

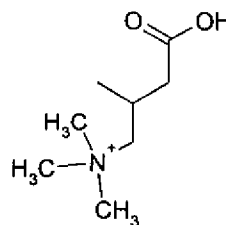
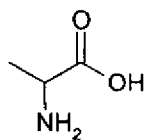
15

R1 e R5 uguali o diversi rappresentano COOR6, CONHR6, SO₂R6, SO₂NHR6, SO₃R6, OR6, COR6, NHR6, R6;

in cui R6 rappresenta H oppure una catena alchilica, satura o insatura, lineare o ramificata, da 1-5 atomi di carbonio, oppure fenile, eventualmente sostituiti con R7;

20

in cui: R7 rappresenta OH, COOH, SO₃H, , NR₈R₉,

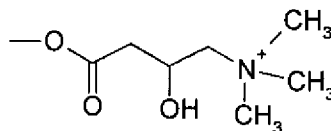
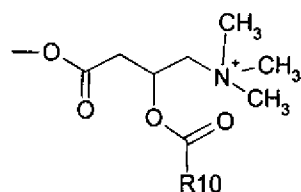


in cui:

30

R8 e R9 uguali o diversi rappresentano H, alchile da 1 a 5 atomi di carbonio;

R2 e R4 uguali o diversi rappresentano H, OH, NHR6, OCO-R10-NR₈R₉,



in cui R10 rappresenta una catena alchilica, satura o insatura, lineare o ramificata, da 1-5 atomi di carbonio;

R3 rappresenta $-\text{[CH}_2\text{]}_n-$, $-\text{CH}_2\text{-O-}$, $-\text{CH(R11)-}$,

10 in cui n rappresenta un numero intero compreso fra 1 e 4,
R11 rappresenta un alchile lineare o ramificato a 1-5 atomi di carbonio, eventualmente sostituito con un gruppo ammino, alchil ammino C₁-C₅, dialchil ammino C₁-C₅, OH, alchilossi C₁-C₅;

15 per la preparazione di un medicamento per il trattamento di patologie caratterizzate da depositi di aggregati amiloidei.

10. Uso secondo la rivendicazione 9, in cui la patologia caratterizzata da depositi di aggregati amiloidei è scelta nel gruppo consistente di morbo di Alzheimer, sindrome di
20 Down, emorragia cerebrale ereditaria associata ad amiloidosi "Duch type", amiloidosi associata con infiammazione cronica, amiloidosi associata con il mieloma multiplo ed altre discrasie delle cellule linfoide ematiche "B", amiloidosi associata al diabete di tipo II, amiloidosi
25 associata a malattie da prioni, Kuru o scrapie ovina.

11. Uso secondo la rivendicazione 10, in cui l'amiloidosi associata a malattie da prioni è scelta nel gruppo

consistente di malattia di Creutzfeldt-Jakob, o sindrome di Gerstmann-Straussler.

12. Uso secondo la rivendicazione 9-11, in cui il composto è l'acido pamoico, sale sodico.

5 13. Kit diagnostico, comprendente almeno un composto come descritto nella rivendicazione 9, per la diagnosi di patologie caratterizzate da depositi di aggregati amiloidei.

10 14. Kit secondo la rivendicazione 13 in cui almeno uno degli elementi carbonio, idrogeno, azoto, o ossigeno, di detto composto è sostituito con un corrispondente isotopo radioattivo.

15. Kit secondo la rivendicazione 13, in cui detto composto reca almeno un atomo di iodio radioattivo.

15 16. Kit secondo la rivendicazione 13, in cui detto composto recante o meno un isotopo della rivendicazione 14-15, è sotto forma di complesso con un isotopo radioattivo di un metallo.

17. Kit secondo la rivendicazione 16 in cui detto metallo è scelto nel gruppo consistente di indio, gadolinio, o tecnezio.

20 18. Uso del kit della rivendicazione 13-17 per la diagnosi tramite la tecnica di diagnostica per immagini.

19. Uso secondo la rivendicazione 18, in cui detta tecnica diagnostica per immagini è scelta nel gruppo consistente di PET, SPECT, NMR, o tecniche scintigrafiche.

20. Uso secondo la rivendicazione 19, in cui detta tecnica scintigrafica è la scintigrafia planare.
21. Composto come descritto nella rivendicazione 9, nel quale almeno uno degli elementi carbonio, idrogeno, azoto, o ossigeno sono sostituiti con un corrispondente isotopo radioattivo.
22. Composto come descritto nella rivendicazione 9, recante almeno un atomo di iodio radioattivo.
23. Composto come descritto nella rivendicazione 9, recante o meno un isotopo radioattivo della rivendicazione 21-22, complessato con elementi utilizzati in diagnostica per immagini.
24. Composto della rivendicazione 23, in cui l'elemento complessato è scelto nel gruppo consistente di indio, gadolinio o tecnezio.

23 GIU. 2008

SIGMA TAU
IND. FARM. RIUNITE S.p.A.
Viale Shakespeare, 47
00144 ROMA

