

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 100.115

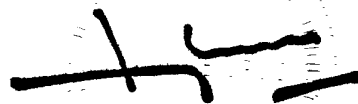
REQUERENTE: CAMBRIDGE NEUROSCIENCE, INC., norte-americana, industrial, com sede em One Kendall Square, Building 700, Cambridge, Massachusetts 02139, Estados Unidos da América do Norte

EPÍGRAFE: "GUANIDINAS SUBSTITUÍDAS E SEUS DERIVADOS ÚTEIS COMO MODULADORES DE LIBERTAÇÃO DE NEUROTRANSMISSORES E ENSAIOS DE RASTREIO PARA BLOQUEADORES DE LIBERTAÇÃO DE NEUROTRANSMISSORES"

INVENTORES: STANLEY M. GOLDIN, SUBBARAO KATRAGADDA, LAIN-YEN HU, N. LAXMA REDDY e JAMES B. FISCHER, residentes nos Estados Unidos da América do Norte

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4.º da Convenção de Paris de 20 de Março de 1883.

Estados Unidos da América do Norte, 8 de Fevereiro
1991, No.07/652,104



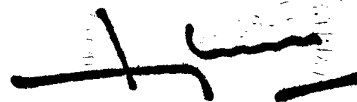
"GUANIDINAS SUBSTITUÍDAS E SEUS DERIVADOS ÚTEIS COMO MODULADORES
DE LIBERTAÇÃO DE NEUROTRANSMISSORES E ENSAIOS DE RASTREIO PARA
BLOQUEADORES DE LIBERTAÇÃO DE NEUROTRANSMISSORES"

=====

MEMÓRIA DESCRITIVA

Resumo

O presente invento diz respeito a compostos úteis como moduladores de libertação de neurotransmissores e que incluem guanidinas, N"-aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N,N',N'',N'''. Estes moduladores de libertação de neurotransmissores são úteis para o tratamento ou prevenção de condições patofisiológicas caracterizadas pela libertação de níveis excessivos ou inapropriados de neurotransmissores. São também revelados ensaios de rastreio para compostos que inibem selectivamente a libertação de glutamato.



Referência a Pedidos de Patente Relacionados

O presente pedido de patente é uma continuação em parte do Pedido de Patente dos E.U.A. com o Nº de Série 07/652 104, apresentada em 8 de Fevereiro de 1991, cujo conteúdo é aqui incorporado no seu todo por referência.

Campo do Invento

Este invento situa-se no campo da química medicinal. Em particular, este invento diz respeito a moduladores de libertação de neurotransmissores, e a composições farmacêuticas que os contêm, que possuem utilidade como neuroprotectores e outras utilizações farmacêuticas. O invento também se relaciona com ensaios de rastreio para compostos que inibem a libertação de neuroprotectores. Este invento diz respeito ainda a métodos que envolvem a utilização de tais moduladores de libertação de neurotransmissores para o tratamento ou prevenção de certas condições patofisiológicas caracterizadas pela libertação excessiva ou inapropriada de neurotransmissores.

Fundamento do Invento

Uma vasta variedade de guanidinas substituídas é revelada na literatura de patentes. Por exemplo:

1 411 731 e 1 422 506 revelam a difenilguanidina como acelerador de borracha;

1 597 233 revela N-o-tolil-N'-fenilguanidina como acelerador de borracha;

1 672 431 revela N,N'-di-o-metoxifenilguanidina como sendo útil para fins farmacêuticos, especialmente na forma de sais solúveis em água;

1 730 338 revela N-p-dimetil-amino-fenil-N'-

fenilguanidina como acelerador de borracha;

1 795 738 revela um processo para a produção de N,N'-dialquilguanidinas dissubstituídas, que incluem N-dietil-N'-fenilguanidina, N-dietil-N'-isoamilguanidina, N-dimetil-N'-isoamilguanidina e N-dimetil-N'-etilguanidina;

1 850 682 revela um processo para a preparação de aceleradores de borracha de guanidina dissubstituída que suportam um substituinte adicional no átomo de azoto de imina;

2 145 214 revela a utilização de guanidinas dissubstituídas, e.g., diarilguanidinas, especialmente dixililguanidina, como parasitocidas;

2 254 009 revela sin-di-2-octilguanidina e 2 274 476 e 2 289 542 revela sin-diciclo-hexilguanidina como insecticidas e repelentes de larvas de traças e outros lepidópteros;

2 633 474 revela 1,3-bis(o-etilfenil)guanidina e 1,3-bis(p-etilfenil)guanidina como aceleradores de borracha;

3 117 994 revela guanidinas trissubstituídas em N, N' e N'' e os seus sais como compostos bacteriostáticos;

3 140 231 revela N-metil- e N-etil-N'-octilguanidinas e os seus sais como agentes anti-hipertensores;

3 248 246 descreve (Exemplo 5) uma guanidina dissubstituídas em 1,3 cujos substituintes são grupos hidrocarbonetos hidrofóbicos, um dos quais é naftilmetilo e o outro é n-butilo;

3 252 816 revela várias cinamilguanidinas substituídas em N e não substituídas e genericamente os correspondentes compostos alquil-substituídos em N' e N'' e os seus sais como agentes anti-hipertensores;

3 270 054 revela derivados N-2-adamant-1-il- e N-2-homoadamant-1-il-oxo-etil-tioetil- e aminoetil-guanidina que suportam no máximo dois grupos alquilo inferior no átomo de azoto N' e/ou N'' como agentes simpaticolíticos e antivirais;

3 301 755 revela alquilguanidinas não etilenicamente substituídas em N e os correspondentes compostos substituídos por

alquilo inferior em N' e/ou N'' como agentes hipoglicêmicos e anti-hipertensores;

3 409 669 revela N-ciclo-hexilamino-(propil 3,3-dialquilsustituído)guanidinas e os correspondentes compostos alquil-sustituídos em N' e/ou N'' como agentes anti-hipertensores;

3 547 951 revela guanidinas substituídas por 1,3-dioxolan-4-il-alquilo que têm actividade anti-hipertensora e revela alquilo inferior, incluindo n-butilo, como um substituinte possível no outro grupo amino;

3 639 477 revela compostos propoxilguanidina como tendo propriedades anorécticas;

3 681 459, 3 769 427, 3 803 324, 3 908 013, 3 976 787 e 4 014 934 revelam derivados de guanidina substituída por aromáticos em que o anel fenilo pode conter substituintes hidroxí e/ou halogéneo para utilização em terapia vasoconstrictora;

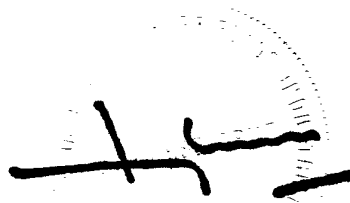
3 804 898 revela N-benzilciclobutenil-alquil-guanidinas e os correspondentes compostos alquil-sustituídos em N' e/ou N'' como agentes hipotensores;

3 968 243 revela guanidinas substituídas em N por aralquilo e os correspondentes compostos N'-alquil-N''-alquilo e N',N'-aralquilo como sendo úteis no tratamento de arritmias cardíacas;

3 795 533 revela o-halo-benzilideno-amino-guanidinas e a sua utilização como antidepressores para superar a depressão psíquica;

4 007 181 revela várias guanidinas dissustituídas em N,N' substituídas no átomo de azoto de imina por um adamantilo como possuindo actividades antiarrítmicas e diuréticas;

4 051 256 revela N-fenil- e N-piridil-N'-adamantil e cicloalquil-guanidinas como agentes antivirais;



4 109 014 revela guanidinas substituídas em N por hidroxi e as correspondentes guanidinas dissustituídas por metilo em N como agentes vasoconstrictores;

4 169 154 revela a utilização de guanidinas no tratamento da depressão;

4 393 007 revela guanidinas substituídas em N e não substituídas, substituídas em N por metilo e não substituídas em N', monossustituídas e dissustituídas não substituídas e substituídas em N'' como agentes de bloqueio gangliónico; e

4 471 137 revela N,N,N',N''-tetra-alkilguanidinas como sendo bases com impedimento estérico úteis na síntese química.

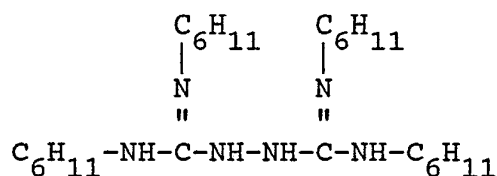
4 709 094 revela guanidinas dissustituídas em 1 e 3, e.g., 1,3-dibutil-guanidina e 1,3-di-o-tolil-guanidina (DTG) como ligandos de receptor cerebral sigma.

Para exemplos de outras guanidinas substituídas ver, e.g., 1 422 506, 1 642 180, 1 756 315, 3 159 676, 3 228 975, 3 248 426, 3 283 003, 3 320 229, 3 479 437, 3 547 951, 3 639 477, 3 784 643, 3 949 089, 3 975 533, 4 060 640 e 4 161 541.

Geluk, H. W., et al., J. Med. Chem., 12, 712 (1969) descreve a síntese de uma variedade de guanidinas dissustituídas por adamantilo como possíveis agentes antivirais, que incluem hidrocloreto de N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina, hidrocloreto de N-(adamantan-1-il)-N'-ciclo-hexil-guanidina e hidrocloreto de N-(adamantan-1-il)-N'-benzil-guanidina.

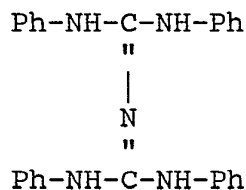
A Publicação do Pedido de Patente PCT Nº W088/00583 revela diadamantilguanidina e N,N'-di-(2-adamantil)guanidina. Estes compostos são referidos como sendo úteis para o tratamento da esquizofrenia, psicose e depressão.

Vasilev, P., et al., Chem. Abstr., 93: 150095u, revela um composto com a seguinte fórmula de estrutura:

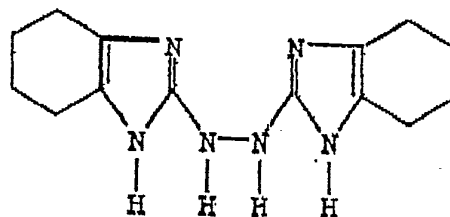


Este composto é referido como tendo actividade virucida.

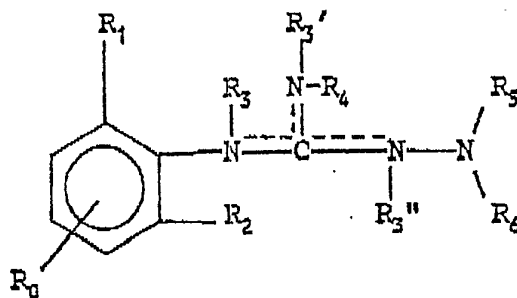
V. A. Ginsburg et al., Chem. Abstr., 4518d (1962), e V. A. Ginsburg et al., Zhurnal Organ. Khimii, 7: 2267-2270 (1971), revelam um composto que tem a fórmula de estrutura:



Kreutzberger e Schuker, Arch. Pharmz. Ber. Deut. Pharm. Ges., 305: 400-405 (1975), revela um composto que tem a fórmula de estrutura:



A Patente Alemã Nº DE 2 452 691 revela um composto que tem a fórmula de estrutura:



em que, inter alia,

R_0 representa hidrogénio, halogéneo, hidroxí, alcoxi ou alquilo C_1-C_6 ;

R_1 e R_2 representam halogéneo, hidroxí, alquilo C_1-C_4 ou alcoxi C_1-C_4 ;

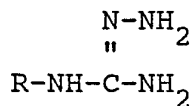
R_3 , R_3' e R_3'' representam hidrogénio ou alquilo C_1-C_4 ;

R_4 representa hidrogénio, alquilo C_1-C_4 , hidroxí, alcoxi C_1-C_4 ou um grupo amino;

R_5 e R_6 representam hidrogénio, alquilo C_1-C_6 ou um grupo acilo ou formam um anel cíclico.

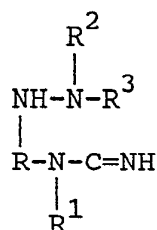
Os compostos particulares revelados nesta patente incluem 1-(2,6-diclorofenil)-2-(2,6-diclorobenzilidino)amino-guanidina.HCl e 1-(2,6-diclorofenil)-2-ciclo-hexilideno-amino-guanidina. Estes compostos são referidos como tendo propriedades anti-hipertensoras.

R. Sunderdiek et al., Chem. Abstr., 81: 91439m (1974), revelam um composto que tem a fórmula de estrutura:



em que R = Ph ou ciclo.hexilo.

K. J. Bent et al., Chem. Abstr., 74: 63479m (1971), é um resumo da Patente Alemã Nº 2 029 707. Esta patente revela compostos antivirais que têm a fórmula de estrutura:



em que:

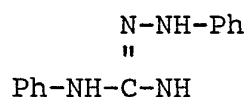
R representa amino, metilo, iso-butilo ou fenilos p-substituídos;

R¹ representa hidrogénio, metilo ou iso-butilo;

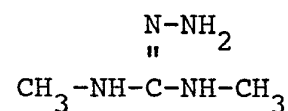
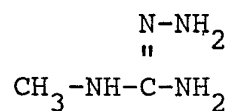
NRR₁ representa morfolino;

R² e R₃ representam hidrogénio, CHC₆H₃Cl₂(2,4-), isopropilo, C₆H₄p-Cl, CH(CH₂)₁₀CH₃ ou 1-(4-piridil)etilideno.

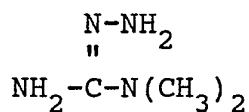
Huisgen et al., Chem. Abstr., 63: 2975d (1965), revela um composto que tem a fórmula de estrutura:



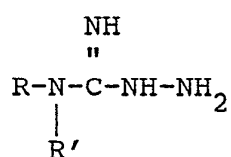
F. Kroeger et al., Chem. Abstr., 60: 9264f, revelam compostos que têm as fórmulas de estrutura:



L. Heinisch, J. Pract. Chem., 329: 290-300 (1987), revela um composto que tem a fórmula de estrutura:



C.-R. Kramer et al., Biochem. Physiol. Pflanzen., 178: 469-477 (1983), revelam um composto que tem a fórmula de estrutura:



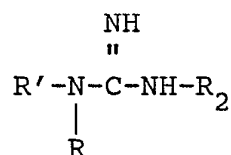
em que:

R representa hidrogénio, metilo, butilo, hexilo, benzilo e fenilo, e

R' representa hidrogénio ou metilo.

Estes compostos são referidos como tendo actividade algicida.

R. N. Prasad et al., Can. J. Chem., 45: 2247-2252 (1967), revelam um composto que tem a fórmula de estrutura:



em que:

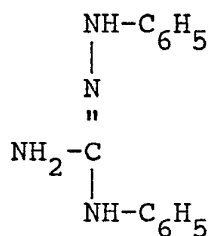
R e R' representam hidrogénio ou $\text{Cl}_2-\text{CH}-\text{CO}-$,

R₂ representa hidrogénio e

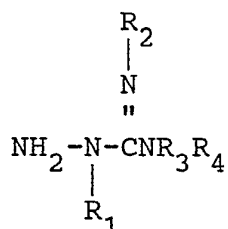
R' representa qualquer um de entre numerosos substituintes que têm a fórmula geral $\text{alquil}=\text{N}-$.

Estes composatos foram avaliados em relação à sua actividade antibacteriana.

Huisgen, et al., Chem. Ber., 98: 1476-1486 (1965),
revelam um composto que tem a fórmula de estrutura:

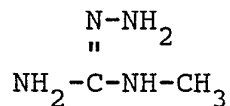


E. G. Podrebarac et al., J. Med. Chem., 6: 283-288
(1963), revelam compostos que têm a fórmula de estrutura:

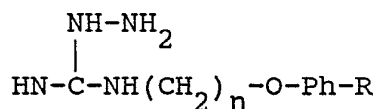


em que os grupos R podem representar hidrogênio ou metilo. Estes compostos eram intermediários para a preparação de análogos de metilglioxal-bis(guanil-hidrazona) que podem ter actividade contra a leucemia mielocítica aguda do adulto.

Kroger et al., Ber., 97: 396-404 (1964), revelam um composto que tem a fórmula de estrutura:



G. J. Durant et al., J. Med. Chem., 9: 22-27 (1966),
revelam um composto que tem a fórmula de estrutura:



em que R representa um grupo alquila, halo ou alcoxi. Estes compostos são referidos como tendo actividade anti-inflamatória.

O glutamato-L de aminoácido é largamente tido por actuar como uma substância transmissora química nas sinapses excitadoras no interior do sistema nervoso central. As respostas neuronais ao glutamato são complexas e aparentam ser mediadas por pelo menos três tipos diferentes de receptores, i.e., os subtipos KA, QA e NMDA, sendo cada um nomeado pelos seus ligandos relativamente específicos, i.e., ácido cainico, ácido quisquálico e ácido N-metil-aspartico-D, respectivamente. Um aminoácido que activa um ou mais destes tipos de receptores é referido como um aminoácido excitador (EAA).

O subtipo NMDA de receptores de aminoácido excitador é activado durante a transmissão sináptica excitadora normal no cérebro. A activação de receptores NMDA sob condições normais é responsável pelo fenómeno de potenciação de longo prazo, um fenómeno semelhante à memória, nas sinapses excitadoras. A excitação excessiva de neurónios ocorre em convulsões epilépticas e tem-se verificado que a sobreactivação dos receptores NMDA contribui para a patofisiologia da epilepsia.

Os receptores NMDA estão também fortemente envolvidos na morte da célula nervosa que ocorre a seguir à isquemia cerebral ou da medula espinal. Após a ocorrência de um evento cerebral isquémico, tal como um derrame cerebral, ataque cardíaco ou injúria cerebral traumática, ocorre uma libertação excessiva de glutamato endógeno, que resulta na sobre-estimulação dos receptores NMDA. Associado com o receptor NMDA está um canal

iónico. O local de reconhecimento, i.e., o receptor NMDA, é externo ao canal iónico. Quando o glutamato interaccua com o receptor NMDA, causa a abertura do canal iónico, permitindo desta maneira o fluxo de catiões através da membrana celular, e.g. Ca^{2+} e Na^+ para o interior da célula e K^+ para o exterior da célula. Acredita-se que este fluxo de iões, especialmente o influxo de iões Ca^{2+} , prococado pela interacção do glutamato com o receptor NMDA, desempenhe um papel importante na morte da célula nervosa. Ver, e.g., S. M. Rothman e J. W. Olney, Trends in Neurosci., 10(7), 299-302 (1987).

Estudos in vitro têm claramente demonstrado que a activação de receptores KA pode causar um dano neuronal excitador, ainda que sejam necessárias exposições mais longas (J. Y. Kho, J. Neurosci., 10 : 693-705 (1990); e A. J. Frandsen et al., J. Neurochem., 33 : 297-299 (1989). O antagonista de receptor KA competitivo 2,3-di-hidroxi-6-nitro-7-sulfamoilbenzoquinazalina (NBQX) é eficaz na prevenção da degeneração neuronal retardada que se segue à isquemia transiente do prosencéfalo em roedores (Sheardown, M. J, et al., Science, 247 : 571-574 (1990). Contudo, tais efeitos requerem doses de NBQX sistémicas relativamente grandes e potencialmente tóxicas, aparentemente devido a este composto exhibir fraca penetração da barreira sanguínea cerebral.

Presentemente, há uma necessidade crítica de tratamentos eficazes que limitem a extensão da morte da célula nervosa que se segue ao derrame cerebral ou injúria cerebral traumática. Recentes avanços na compreensão do mecanismo que está subjacente a esta morte da célula nervosa têm trazido a esperança de que possa ser desenvolvido um tratamento com medicamentos. Os esforços de pesquisa e desenvolvimento nesta área têm estado focados sobre o bloqueamento das acções do glutamato que são mediadas pelo complexo do canal de receptor NMDA. Estão bem

desenvolvidas duas aproximações: antagonistas de receptor NMDA competitivos [Choi, D. W., Cerebrov. Brain Metab. Rev., 1: 165-211 (1990); Watkins, J. C., e Olverman, H. J., Trends Neurosci., 10: 265-272 (1987)] e bloqueadores do canal iônico do complexo do canal de receptor NMDA [Meldrum, B., Cerebrovascular Brain Metab. Rev., 2: 27-57 (1990); Choi, D. W., Cerebrovascular Brain Metab. Rev., 2: 105-147 (1990); e Kemp, J. A., et al., Trends Neurosci., 10: 265-272 (1987)]. O bloqueador de canal iônico MK-801 é um agente neuroprotector eficaz numa variedade de modelos in vivo de derrame cerebral [Meldrum, B., Cerebrovascular Brain Metab. Rev., 2: 27-57 (1990); Albers, G. W., et al., Anal. Neurol., 25: 398-403 (1989)]. Contudo existe alguma toxicidade associada a esta classe de compostos [Olney, J. W., et al., Science, 244 : 1360-1362 (1989); Koek, W., e Colpaert, J., J. Pharmacol. Exp. Ther., 252: 349-357 (1990)] e antagonistas de NMDA têm-se mostrado inibir a aquisição de memória [Morris, R. G. M., in Excit. A. A.'s in Health and Disease, D. Lodge (ed.), Wiley, 297-320 (1988)]. Estes efeitos laterais podem limitar a utilização clínica de tais agentes a situações agudas.

Os bloqueadores de libertação de neurotransmissores têm também recebido alguma atenção como agentes neuroprotectores potenciais. Por exemplo, análogos de adenosina podem atenuar indirectamente a libertação de neurotransmissores via inibição mediada por proteína-G de canais de cálcio pré-sinápticos [Meldrum, B., Cerebrovascular Brain Metab. Rev., 2: 27-57 (1990); Dolphin, A. C., Nature, 316: 148-150 (1985)]. Tem-se verificado que estes compostos são neuroprotectores durante a isquemia em vários modelos de derrame cerebral em roedores [Evans, M. C., et al., Neurosci. Lett., 83: 287-292 (1987)]. Ault, B., e Wang, C. M., Br. J. Pharmacol., 87: 695-703 (1986) revelam que a adenosina inibe a actividade epileptiforme em lâminas do hipocampo.

Outros bloqueadores putativos da libertação de glutamato actuam por um mecanismo ainda não definido. O derivado de piridina substituída 2-[4-(p-fluorobenzoil)piperidin-1-il]-2'-acetofenona (E-2001) [Kaneko, T., et al., Arzneim-Forsch./Drug Res., 39: 445-450 (1989)] e o composto PK 26124 (riluzole, 2-amino-6-trifluorometoxibenzotiazole) [Malgouris, C., et al., J. Neurosci., 9: 3720-3727 (1989)] têm-se revelado neuroprotectores em roedores. PK 26124, em dosagens terapêuticas em ratazanas, parece não produzir efeitos laterais de comportamento semelhantes a aos de MK-801, numa comparação controlada dos seus efeitos laterais/razão de eficácia com os de MK-801 [Koek, W., e Colpaert, J., J. Pharmacol. Exp. Ther., 252: 349-357 (1990)]. E-2001 melhora a degeneração dos neurónios piramidais no sector CA1 do hipocampo que se segue à isquemia transiente em gerbilos Mongolóides. Em aditamento, o E-2001 aumenta os sintomas de derrame cerebral induzido por ligação arterial da carótida unilateral permanente em gerbilos, prolongou o tempo de sobrevivência que se segue à ligação arterial da carótida bilateral permanente em gerbilos e ratos e prolongou o tempo de sobrevivência que se segue à injeção intravenosa de KCN em ratos [Kaneko, T., et al., Arzneim-Forsch./Drug Res., 39: 445-450 (1989)].

Acredita-se que a toxicidade do glutamato está envolvida na injúria aguda do sistema nervoso, conforme se observou com convulsão, hipoxia, hipoglicemia e trauma, bem como em doenças degenerativas crónicas, tais como a doença de Huntington, atrofia olivopontocerebelar associada com a deficiência de desidrogenase de glutamato e catabolismo de glutamato diminuída, esclerose lateral amiotrófica de Guam/demência Parkinsónia, doença de Parkinson e doença de Alzheimer. [Choi, D. W., Cerebrov. Brain Metab. Rev., 2: 105-147 (1990)].

Langlais, P. L. et al., J. Neurosci., 10: 1664-1674 (1990) revelam que glutamato e GABA podem estar envolvidos na deficiência de tiamina induzida por piritiamina (PTD) que causa a formação de lesões talâmicas e convulsões. A administração do antagonista MK-801 do receptor NMDA durante as fases tardias da PTD resultou numa acentuada atenuação do dano necrótico ao tálamo e substância cinzenta periaquedutal e numa redução no número e dimensão das lesões hemorrágicas. Visto que a deficiência de tiamina é responsável por danos semelhantes no síndrome de Wernicke-Korsakoff, Langlais et al. sugerem que estes resultados proporcionam uma razão importante para o tratamento desta condição neuropática humana.

Malgouris, C., et al., J. Neurosci., 9: 3720-3727 (1989) revela que PK 26124 (riluzole), um composto que inibe a libertação de glutamato dos terminais nervosos, tem actividade anticonvulsiva, melhora a qualidade do sono em roedores e é activo na protecção do cérebro do roedor em relação às consequências celulares e funcionais da isquemia, incluindo a prevenção da perda de memória e danos do hipocampo neuronal.

Miller et al., New Anticonvulsant Drugs, Meldrum, B. S., e Porter, R. J., (eds.), London: John Libbey, 165-177 (1986), revelam que o bloqueador de libertação de glutamato lamotragina é um anticonvulsivo.

M. T. Price e J. W. Olney, Soc. Neurosci. Abstr., 16: 377, abstr. 161.16 (1990), revelam que a administração de antagonistas de EAA preveniam completamente o vômito em furões que foram sujeitos a quimioterapia com cisplatina. Os antagonistas de EAA empregues não penetram a barreira sanguínea cerebral e foi por conseguinte sugerido que tais compostos podem prevenir a

náusea, um efeito lateral comum durante a quimioterapia do cancro.

Os antagonistas de cálcio, tais como a nimodipina, actuam não só como vasodilatadores cerebrais [M. C. W. Wang e E. C. Haley Jr. Stroke, 24: 31-36 (1989)] mas também bloqueiam a entrada de cálcio nos neurónios [A. Scriabine, Adv. Neurosurg. (1990)]. Melhorias modestas no resultado de derrames cerebrais têm sido observadas em testes clínicos [H. J. Gelmers et al., N. Eng. J. Med., 318: 203-207 (1988)]. Apesar de haver significativos efeitos laterais cardiovasculares, a nimodipina aparenta ser menos tóxica do que os antagonistas de NMDA e podem encontrar um papel no tratamento crónico do derrame cerebral e outras desordens neurológicas.

Há pelo menos três subclasses de canais de cálcio, "T", "N" e "L", que diferem na sua farmacologia, localização em tecidos neuronais e não neuronais, e propriedades fisiológicas [M. C. Nowycky et al., Nature, 316: 440-443 (1985); B. P. Bean, Ann. Rev. Physiol., 51: 367-384 (1989)]. Os canais de cálcio sensíveis a voltagem (VSCC) em terminais de nervo pré-sináptico controlam o influxo de Ca^{2+} e, por conseguinte, determinam a quantidade e duração do transmissor libertado pelos potenciais de acção pré-sináptica. Experiências de fluxo traçador ^{45}Ca bioquímico com terminais nervosos isolados (sinaptossomas) indicam que a despolarização de K^+ dependente da entrada de ^{45}Ca consiste de componentes transientes rápidas e sustentadas lentas. O influxo de Ca transiente foi determinado para representar um processo mediado de canal, ao passo que a componente sustentada reflecte a entrada de Ca via permuta Na/Ca invertida [T. Turner e S. Goldin, J. Neurosci., 5: 841-849 (1985); J. B. Suskziw, NATO ASI Series, H21: 286-291 (1988); J. B. Suskziw et al., J. Neurochem., 42: 1260-1269 (1989)].

O Pedido de Patente Europeia Nº 0 266 574 revela que bloqueadores de sobrecarga de cálcio serão úteis no tratamento de anoxia, isquemia, enxaqueca e epilepsia. Este pedido de patente também revela que certos derivados de piperidina têm actividade contra a sobrecarga de cálcio no cérebro, e podem ser usados no tratamento da enxaqueca.

E. B. Dreyer et al., Science, 248: 364-367 (1990) revelam que a proteína gp120 de revestimento do HIV (vírus da imunodeficiência humana ou VIH) produz lesões em células neuronais que podem ser responsáveis pela demência e cegueira encontradas no síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA). Os antagonistas do canal de cálcio previnem a lesão neuronal induzida por gp120 das células do gânglio da retina. Dreyer et al. propõem que os antagonistas do canal de cálcio podem provar ser úteis na mitigação da injúria neuronal relacionada com o VIH-1.

Sumário do Invento

É um objectivo deste invento proporcionar guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' que modulam a libertação de neurotransmissores (e.g., glutamato) de células neuronais.

Algumas desordens (e.g., danos em neurónios no derrame cerebral) podem ser aliviadas pela inibição da libertação de EAAs, tais como glutamato. Algumas desordens (e.g., depressão) podem ser aliviadas pela inibição da libertação de neurotransmissores inibidores, tais como ácido gama-aminobutírico (GABA). Além disso, a inibição da libertação de um neurotransmissor excitador (glutamato) pode indirectamente potenciar a libertação ou as acções subsequentes de um transmissor inibidor (e.g., GABA) e, por conseguinte, serve para tratar desordens conhecidas por

serem aliviadas por potenciação mais directa da neurotransmissão inibidora (neste exemplo, ansiedade e/ou insónia). Isto serve para ilustrar o grande âmbito da potencial terapêutica dos compostos do presente invento. Desta maneira, qualquer doença que resulte da modulação de um sistema neurotransmissor particular pode ser contrariada pelas guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento que actuam quer na mesma quer numa outra classe de neurotransmissores.

É ainda um outro objectivo do invento tratar ou prevenir a morte da célula nervosa que resulta de hipoxia, hipoglicemia, isquemia cerebral ou da medula espinal, trauma cerebral ou da medula espinal, apoplexia, ataque cardíaco ou afogamento, pela administração de quantidades eficazes de guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' que inibem a libertação de neurotransmissores de células neuronais.

É ainda um outro objectivo do presente invento tratar ou prevenir várias doenças neurodegenerativas, tais como doença de Huntington, Esclerose Lateral Amiotrófica, doença de Alzheimer, Síndrome de Down, doença de Korsakoff, atrofia olivopontocerebelar, demência induzida pelo VIH (ou HIV), cegueira induzida pelo VIH ou demência de enfarte múltiplo, pela administração de quantidades eficazes de guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' que inibem a libertação de neurotransmissores.

Um outro objectivo do invento é a produção de guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' que são úteis para o tratamento ou prevenção de condições neurológicas, tais como

epilepsia e convulsões, envenenamento por monóxido de carbono, envenenamento por cianeto, dano cerebral tóxico provocado por tetrodotoxina ou toxinas de mariscos, ansiedade, amnésia, enxaqueca, oncocercíase e náusea que pode resultar de quimioterapia.

É também um objectivo do presente invento proporcionar um ensaio de rastreio para inibidores de libertação de neurotransmissores (e.g., glutamato, dopamina, norepinefrina, glicina, aspartato, serotonina e outros neurotransmissores) dos terminais do nervo cerebral. É também um objectivo do invento proporcionar um novo ensaio de rastreio que permite a identificação de novos compostos que inibem certas subcomponentes da libertação de glutamato. Tais subcomponentes só podem ser identificadas por um sistema de ensaio capaz de resolver a libertação de neurotransmissor na escala de tempo do subsegundo.

O ensaio de rastreio do invento caracteriza-se por compreender os seguintes passos:

- (a) o contacto de sinaptossomas imobilizados que contêm neurotransmissor marcado radioactivamente com um composto suspeito de inibir a libertação do neurotransmissor;
- (b) a indução, por despolarização, da libertação do neurotransmissor marcado radioactivamente dos sinaptossomas imobilizados marcados radioactivamente obtidos no passo (a);
- (c) a lavagem dos sinaptossomas imobilizados marcados radioactivamente obtidos no passo (b) com um tampão que compreende o referido composto e o fraccionamento do efluente cada 15 a 500 ms; e
- (d) a detecção da quantidade relativa de neurotransmissor marcado radioactivamente em cada fracção por comparação

com sinaptossomas de controlo que não foram expostos ao composto de interesse;
em que uma quantidade reduzida de neurotransmissor marcado radioactivamente nas fracções dos sinaptossomas tratados com o composto, relativa aos sinaptossomas de controlo, indica que o composto inibe a libertação do neurotransmissor.

O ensaio de rastreio pode ser conduzido na presença ou ausência de Ca^{2+} de maneira a identificar os compostos que são inibidores selectivos de uma ou mais subcomponentes ou da libertação de neurotransmissores.

É um outro objectivo do presente invento proporcionar novas guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' bem como as suas composições farmacêuticas.

Após um estudo adicional da memória descritiva e das reivindicações apensas, outros objectivos e vantagens deste invento tornar-se-ão aparentes aos peritos na técnica.

Breve Descrição dos Desenhos

Vários outros objectivos, traços e vantagens concomitantes do presente invento serão mais completamente apreciados à medida que os mesmos se tornem melhor compreendidos quando considerados em conjunção com as Figuras que se juntam:

A Figura 1 representa um gráfico que mostra a libertação de glutamato- ^3H de sinaptossomas do cérebro da ratazana na presença e na ausência de Ca^{2+} 2,4 mM.

A Figura 2 representa um gráfico que mostra o efeito de N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina 0 μM , 10 μM , 30 μM e 100 μM sobre a libertação de glutamato- ^3H dependente de Ca^{2+} de sinaptossomas do cérebro da ratazana.

A Figura 3 representa um gráfico que mostra o efeito de N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina 0 μM , 1 μM , 3 μM e 10 μM ao longo do tempo sobre a libertação de glutamato- ^3H dependente de Ca^{2+} de sinaptossomas marcados radioativamente após despolarização por K^+ (no instante 0).

A Figura 4 representa um gráfico que mostra a correlação entre a inibição da captação de ^{45}Ca sinaptossômico por 10 μM de N-(adamantan-1-il)-N'-(2-metilfenil)guanidina (nº 1), N-(1-naftil)-N'-(m-etilfenil)-N'-metilguanidina (nº 2), N,N'-di-(1-naftil)guanidina (nº 3), N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina (nº 4), N,N'-di-(adamantan-2-il)guanidina (nº 5), N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida (nº 6) e N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina (nº 7) e a inibição da componente dependente de Ca tônico da libertação de glutamato, i.e., a componente de libertação que não decai rapidamente, mas persiste durante pelo menos vários segundos a seguir à despolarização.

A Figura 5 representa um gráfico que mostra a não correlação entre a inibição da captação de ^{45}Ca sinaptossômico por 10 μM de N-(adamantan-1-il)-N'-(2-metilfenil)guanidina (nº 1), N-(1-naftil)-N'-(m-etilfenil)-N'-metilguanidina (nº 2), N,N'-di-(1-naftil)guanidina (nº 3), N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina (nº 4), N,N'-di-(adamantan-2-il)guanidina (nº 5), N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida (nº 6) e N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina (nº 7) e a inibição da componente fásica da libertação de glutamato.

A Figura 6 representa um gráfico que mostra os efeitos da várias concentrações de N,N'-di-(adamantan-2-il)guanidina na libertação de glutamato dependente de Ca^{2+} estimulada com o activador de canal de sódio veratridina.

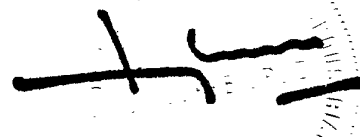
A Figura 7 representa um gráfico que mostra a inibição da captação de Ca estimulada por potássio de sinaptossomas por N,N'-di-(adamantan-2-il)guanidina (■), N,N'-di-(1-naftil)guanidina (◆; $\text{IC}_{50} = 9,1 \mu\text{M}$, ----- $\text{IC}_{50} = 16 \mu\text{M}$), N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida (●; —·— $\text{IC}_{50} = 3,3 \mu\text{M}$) e N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina (; — $\text{IC}_{50} = 6,6 \mu\text{M}$) contra a percentagem de captação de Ca comparada com a dos sinaptossomas de controlo.

A Figura 8 representa um gráfico que mostra o bloqueio do canal de sódio por N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina em células N1E-115, comparado com o das células de controlo não tratadas com a droga. O protocolo do estímulo é mostrado no topo da figura.

A Figura 9 representa um gráfico que mostra a recuperação independente de Ca e dependente de Ca da libertação de 3 -glutamato dos sinaptossomas ao longo do tempo.

A Figura 10 representa um gráfico que mostra a recuperação independente de Ca e dependente de Ca da libertação de 3 -glutamato dos sinaptossomas, na forma de percentagem do primeiro pulso.

A Figura 11 representa um gráfico que mostra um estudo electrofisiológico em canais do tipo N de células do gânglio da raiz dorsal da rã "American bullfrog" tratadas com $5 \mu\text{M}$ de N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina.



A Figura 12 representa uma preparação de lâminas do hipocampo que contém um eléctrodo de estimulação e de registo.

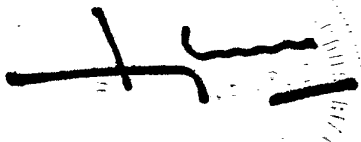
A Figura 13A representa um gráfico que mostra os resultados da aplicação de um banho de N,N'-di-(5-acenaftil)-guanidina sobre as variações transientes da corrente no EPSP (potencial excitador pós-sináptico extracelular) de campo.

A Figura 13B representa um gráfico que mostra os resultados da aplicação de um banho de N,N'-di-(5-acenaftil)-guanidina no EPSP de campo após estimulação eléctrica.

A Figura 13C representa o efeito de 20 μ M de N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina na amplitude da resposta a um estímulo eléctrico.

Descrição das Encorporações Preferidas

O invento está relacionado com a descoberta de que certas guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' têm a capacidade de modular, i.e., inibir ou potenciar, a libertação, ou prolongar o decurso do tempo de acção, de neurotransmissores do tecido neuronal. Como resultado, estes compostos podem ser utilizados para tratar ou prevenir tais condições patofisiológicas que resultam da excessiva ou inadequada libertação de neurotransmissores. Ainda que os requerentes não desejem limitar-se a qualquer teoria particular, parece que as guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento medeiam a inibição da libertação de neurotransmissores pelo bloqueamento dos canais de cálcio pré-sinápticos.



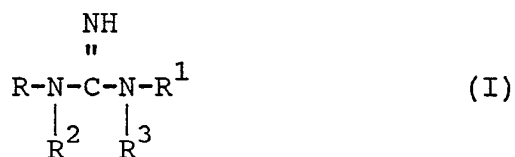
Inesperadamente, os requerentes descobriram que existem três subcomponentes distintas da libertação de glutamato das células neuronais estimuladas por despolarização. Como mostra a Figura 1, a primeira componente é uma componente fásica dependente de Ca^{2+} que decai rapidamente com uma constante de tempo de decaimento inferior a 100 ms (chamada componente fásica). A segunda componente (chamada tónica) é dependente de Ca^{2+} e persiste durante pelo menos um segundo e, geralmente, durante a duração da despolarização. Uma terceira componente é independente de Ca^{2+} e pode resultar da inversão do sistema de captação de glutamato dependente de Na electrogénico. Como se mostra na Figura 4, o bloqueio da componente dependente de Ca^{2+} tónica correlaciona-se bem com o bloqueio da captação de cálcio. O influxo de cálcio para os terminais do nervo é um passo importante na cascata de mudanças que ocorrem na morte da célula neuronal depois de isquemia. Estes resultados sugerem que as guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento são promissoras na prevenção da morte da célula neuronal após isquemia.

A inibição da libertação de glutamato pelos compostos do invento não aparenta estar relacionada com qualquer actividade de ligação ao receptor sigma. Não só a N,N'-di-(adamantan-1-il)-guanidina mas também a N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina têm actividade inibidora semelhante sobre a libertação de glutamato (55 % e 60 % de inibição a 30 μM , respectivamente) mas têm actividades de ligação ao receptor sigma bastante diferentes. (IC_{50} = 16,5 nM e 92,7 nM contra $^3\text{-DTG}$, respectivamente).

A identificação das três componentes da inibição da libertação de glutamato permitem o rastreio de compostos que exibem selectividade para a componente persistente dependente de Ca^{2+} da libertação de glutamato. A identificação de tais

compostos proporcionará mais drogas eficazes com poucos efeitos laterais.

Em geral, as guanidinas substituídas que podem modular a libertação de neurotransmissor e que são úteis na prática do invento incluem compostos que têm a Fórmula de estrutura (I):



em que:

R e R¹ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4--metileno-ciclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-dietilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo, o-propilfenilo, p-isopropilfenilo, p-terc-butilfenilo, p-n-propilfenilo, p-ciclopropilfenilo, p-ciclo-hexilfenilo, p-n-butilfenilo, naftilo, e.g., 1-naftilo ou 2-naftilo, bifenilo; ou um grupo heterocíclico, tal como indanilo, e.g., 4-indanilo; indenilo, e.g., 1- ou 4-indenilo; acenaftilo, e.g., 3-acenaftilo ou 5-acenaftilo; acenaftilenilo, e.g., 5-acenaftilenilo; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole,

quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo e cumarinilo; e

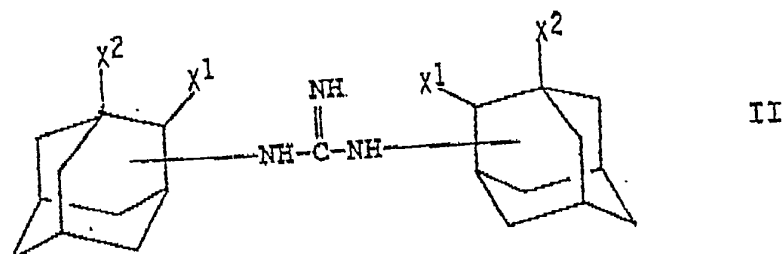
R^2 e R^3 são iguais ou diferentes e representam hidrogênio, alquilo C_{1-6} , alquil(C_{1-6} inferior)amino, arilo ou arilo substituído; ou

R e R^2 ou R^1 e R^3 formam um anel heterocíclico conjuntamente com o azoto de guanidina que pode ser condensado ou substituído por um anel de benzeno.

Os grupos R, R^1 , R^2 e R^3 podem ser substituídos por um ou mais substituintes que incluem hidroxí, amino, oxo, alquilo C_{1-6} inferior, cicloalquilo C_{1-6} , alquil(C_{1-6} inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, nitro, azido, ciano, isocianato, amido, carbamido, sulfonato ou halogéneo, e.g., flúor, cloro, bromo ou iodo.

Os compostos particulares dentro do âmbito e alcance da Fórmula (I) incluem N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina, N,N'-di-(adamantan-2-il)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(1-naftil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(2-iodofenil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(2-metilfenil)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N'-(2-metilfenil)guanidina, N-[(±)-endo-2-norbornil]-N'-(2-iodofenil)guanidina, N-(α-naftil)-N'-(2-iodofenil)guanidina, N-(3-etilfenil)-N'-(1-naftil)guanidina, N-(1-naftil)-N'-(m-etilfenil)-N'-metilguanidina, N,N'-di-(4-n-butilfenil)guanidina, N,N'-di-(4-ciclo-hexilfenil)guanidina, N,N'-di-(bifenil)guanidina, N,N'-di-(4-neopentilfenil)guanidina, N,N'-di-(4-ciclopropilfenil)guanidina, N,N'-di-(4-isopropilfenil)guanidina e terc-N,N'-di-(4-butilfenil)guanidina.

As guanidinas dissustituídas preferidas dentro do âmbito e alcance da Fórmula de estrutura (I) incluem compostos que têm a Fórmula de estrutura (II):



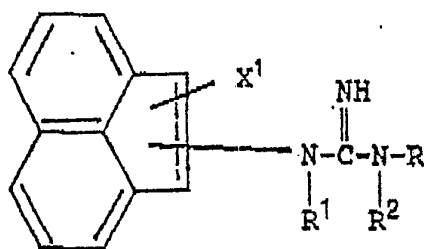
em que o azoto de guanidina pode ser substituído em qualquer posição dos grupos adamantilo;

R^2 e R^3 são definidos como anteriormente;

X^1 e X^2 são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, hidroxí, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, e.g., metoxi, etoxi e propoxi; alquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrílo, ciano, isocianato ou halogénio, e.g., flúor, cloro, bromo ou iodo, amido, e.g., acetamido, N-etilacetamido; carbamido, e.g., carbamilo, N-metilcarbamilo, N,N'-dimetilcarbamilo; etc.

em que pelo menos um de entre X^1 e X^2 é diferente de hidrogénio.

Outras guanidinas preferidas dentro do âmbito e alcance da Fórmula de estrutura (I) incluem compostos que têm a Fórmula de estrutura (III):



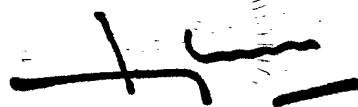
III

em que R, R¹, R² e X¹ são definidos como anteriormente.

Os compostos preferidos dentro do âmbito e alcance da Fórmula de estrutura (III) geral incluem N,N'-di-(1-acenaftil)-guanidina, N,N'-di-(3-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(acenaftilen-1-il)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(5-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N-(5-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N-(3-acenaftil)-guanidina, N-(adamantan-2-il)-N'-(3-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(adamantan-2-il)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-hidroxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-hidroxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-metoxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-metoxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-nitronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-nitronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-aminonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-aminonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-azidonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-azidonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-bromonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-bromonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N-(4-cianonaftil)-guanidina, N-(5-acenaftil)-N-(4-cianonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-amidonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-amidonaftil)guanidina,



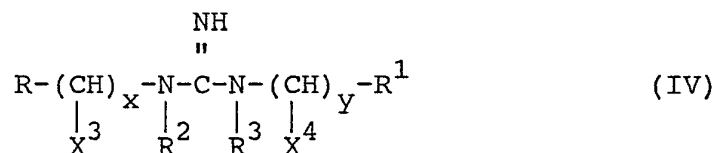
N-(3-acenaftil)-(4-iodonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-(4-
 -iodonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(7-fluoronaftil)-
 guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(7-fluoronaftil)guanidina,
 N-(3-acenaftil)-N'-(2-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-
 -N'-(2-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-metoxi-
 naftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-metoxinaftil)guanidina,
 N-(3-acenaftil)-N'-(2-hidroxinaftil)guanidina, N-(5-acenaft-
 til)-N'-(2-hidroxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-
 aminonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-aminonaftil)gua-
 nidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-isopropilfenil)guanidina, N-(5-
 -acenaftil)-N'-(4-isopropilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-
 -(4-n-propilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-n-propilfe-
 nil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N-(2-isopropilfenil)guanidina,
 N-(5-acenaftil)-N-(2-isopropilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-
 -N-(4-ciclopropilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N-(4-ciclo-
 propilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(cumarinil)guanidina,
 N-(5-acenaftil)-N'-(cumarinil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-
 -(quinolinil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(quinolinil)gua-
 nidina, N-(4-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,
 N-(4-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-
 hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-hidro-
 xi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-nitro-5-ace-
 naftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-nitro-5-acenaftil)-N'-
 -(adamant-2-il)guanidina, N-(4-amino-3-acenaftil)-N'-(adamant-
 -1-il)guanidina, N-(4-amino-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)gua-
 nidina, N-(4-amino-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,
 N-(4-amino-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-meto-
 xi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-metoxi-3-acenaft-
 til)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-metoxi-5-acenaftil)-N'-
 -(adamant-1-il)guanidina, N-(4-metoxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-
 -2-il)guanidina, N-(4-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guani-
 dina, N-(4-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina,
 N-(4-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,



N-(4-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-oxo-3-
 -acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-oxo-3-acenaftil)-N'-
 -(adamant-2-il)guanidina, N-(1-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-
 -il)guanidina, N-(1-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina,
 N-(2-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-oxo-3-
 acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-oxo-5-acenaftil)-N'-
 -(adamant-1-il)guanidina, N-(2-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-
 -il)guanidina, N-(1-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guani-
 dina, N-(1-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina,
 N-(1-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-bro-
 mo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-bromo-3-ace-
 naftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-bromo-3-acenaftil)-N'-
 -(adamant-2-il)guanidina, N-(2-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-
 -1-il)guanidina, N-(2-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)-
 guanidina, N-(1-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,
 N-(1-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-
 -hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-hidro-
 xi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-hidroxi-3-ace-
 naftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-hidroxi-3-acenaftil)-
 -N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-hidroxi-5-acenaftil)-N'-
 (adamant-1-il)guanidina, N-(2-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(ada-
 mant-2-il)guanidina, N-(3-acenaftilenil)-N'-(adamant-1-il)-
 guanidina, N-(3-acenaftilenil)-N'-(adamant-2-il)guanidina,
 N-(5-acenaftilenil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(5-acenaft-
 tilenil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N,N'-bis(4-bromo-3-ace-
 naftil)guanidina, N,N'-bis(4-bromo-5-acenaftil)guanidina,
 N,N'-bis(4-hidroxi-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-hidroxi-
 -5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-amino-3-acenaftil)guanidina,
 N,N'-bis(4-amino-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-nitro-3-
 -acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-nitro-5-acenaftil)guanidina,
 N,N'-bis(1-bromo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-bromo-5-
 -acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-bromo-3-acenaftil)guanidina,
 N,N'-bis(2-bromo-5-acenaftil)guanidina,

N,N'-bis(1-hidroxi-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-hidroxi-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-hidroxi-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-hidroxi-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-oxo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-oxo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-oxo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-oxo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(3-acenaftilenil)guanidina e N,N'-bis(5-acenaftilenil)guanidina.

Outras guanidinas substituídas que podem modular a libertação de neurotransmissores e que são úteis na prática do invento incluem compostos que têm a Fórmula de estrutura (IV):



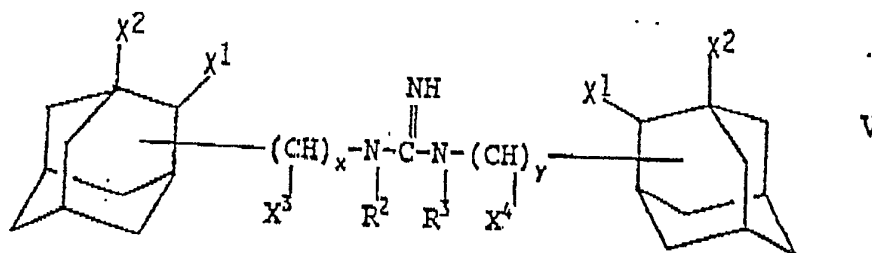
em que:

R, R¹, R² e X¹ são definidos como anteriormente;

X³ e X⁴ têm o mesmo significado que X¹ e X²; e

x e y são iguais ou diferentes e representam 0, 1, 2, 3 ou 4.

As guanidinas substituídas preferidas dentro do âmbito e alcance da Fórmula de estrutura (I) incluem compostos que têm a Fórmula de estrutura (V):

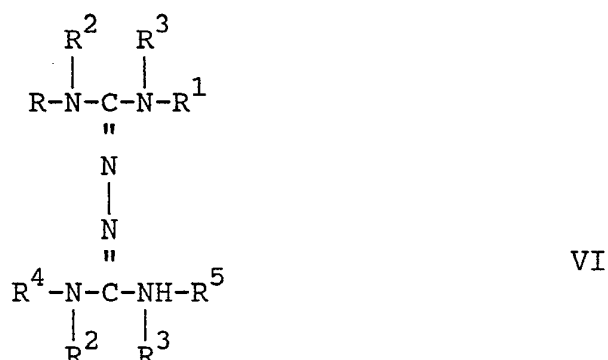


em que R^2 , R^3 , X^1 , X^2 , X^3 , X^4 , x e y são definidos como anteriormente.

As guanidinas substituídas preferidas dentro do âmbito e alcance da Fórmula de estrutura (V) geral incluem N,N'-di-(3-nitroadamantan-1-il)guanidina, N,N'-di-(3-hidroxiadamantan-1-il)guanidina, N,N'-di-(3-aminoadamantan-1-il)guanidina, N,N'-di-(3-nitroadamantan-2-il)guanidina, N,N'-di-(3-hidroxiadamantan-2-il)guanidina, N,N'-di-(3-aminoadamantan-2-il)guanidina, N,N'-di-(5-nitroadamantan-2-il)guanidina, N,N'-di-(5-hidroxiadamantan-2-il)guanidina, N,N'-di-(5-aminoadamantan-2-il)guanidina, N,N'-di-(metilenoadamantan-1-il)guanidina, N,N'-di-(metilenoadamantan-2-il)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(metilenoadamantan-1-il)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N'-(metilenoadamantan-2-il)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(metilenoadamantan-1-il)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N'-(metilenoadamantan-2-il)guanidina, di-[metileno-(3-aminoadamantan-2-il)]guanidina, N,N'-di-[metileno-(3-aminoadamantan-1-il)]guanidina, di-[metileno-(3-hidroxiadamantan-1-il)]guanidina, N,N'-di-[metileno-(3-hidroxiadamantan-2-il)]guanidina, di-[metileno-(3-mercptoadamantan-1-il)]guanidina, N,N'-di-[metileno-(3-mercptoadamantan-2-il)]guanidina, di-[metileno-(3-mercptoadamantan-1-il)]guanidina, N,N'-di-[metileno-(3-mercptoadamantan-2-il)]guanidina,

di-[metileno-(3-cianoadamantan-1-il)]guanidina, N,N'-di-[metileno-(3-cianoadamantan-2-il)]guanidina, di-[metileno-(3-cianoadamantan-1-il)]guanidina, e N,N'-di-[metileno-(3-cianoadamantan-2-il)]guanidina.

Outras guanidinas substituídas que podem modular a libertação de neurotransmissores e que são úteis na prática do invento incluem compostos que têm a Fórmula de estrutura (IV):



em que:

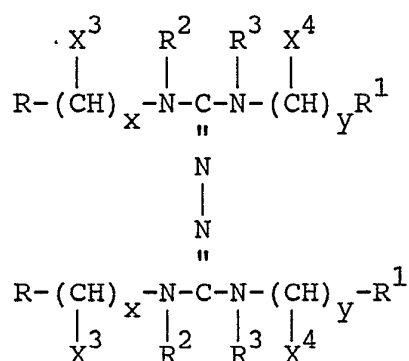
R, R¹, R² e R³ são definidos como anteriormente; e R⁴ e R⁵ têm o mesmo significado que R e R¹.

Os compostos de Fórmula (V) podem ser ou dímeros simétricos de uma única guanidina ou conjugados de guanidinas diferentes.

Os compostos especialmente preferidos dentro do âmbito e alcance da Fórmula de estrutura (VI) que podem utilizados na prática do invento incluem N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetrafenil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(adamantan-1-il)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(adamantan-2-il)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida,

N,N',N'',N'''-tetra-(adamantan-1-il)-hidrazinodicarboximidamida,
 N,N',N'',N'''-tetra-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida,
 N,N'-di-(adamantan-1-il)-N'',N'''-di-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida,
 N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida,
 N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida,
 N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(adamantan-1-il)-hidrazinodicarboximidamida e
 N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida.

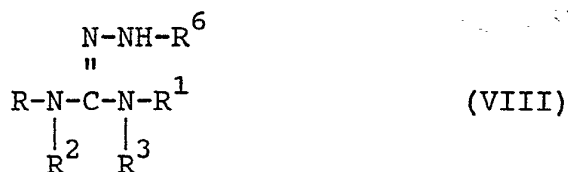
Outras guanidinas substituídas que podem modular a libertação de neurotransmissores e que são úteis na prática do invento incluem compostos que têm a Fórmula de estrutura (VII):



em que:

R, R¹, R², R³, X³, X⁴, x e y são definidos como anteriormente. Os compostos preferidos que têm a Fórmula de estrutura (VI) são aqueles em que R e R¹ representam grupos adamantilo.

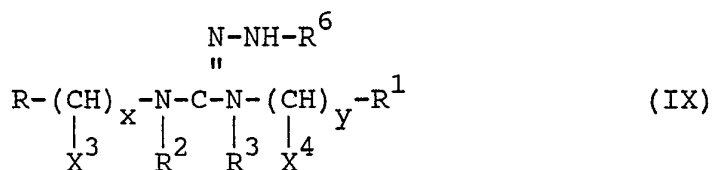
Outras guanidinas substituídas que podem modular a libertação de neurotransmissores e que são úteis na prática do invento incluem compostos que têm a Fórmula de estrutura (VIII):



em que:

R, R¹, R² e R³ são definidos como anteriormente e R⁶ representa alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo carbocíclico, nitrilo, alcoxi(C₁₋₆)carbonilo, benzoílo ou acilo C₁₋₆.

Outras guanidinas substituídas que podem modular a liberação de neurotransmissores e que são úteis na prática do invento incluem compostos que têm a Fórmula de estrutura (IX):

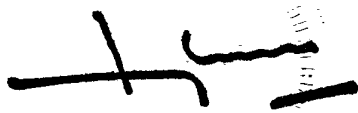


em que:

R, R¹, R², R³, R⁶, X³, X⁴, x e y são definidos como anteriormente.

Os compostos preferidos dentro do âmbito e alcance da Fórmula de estrutura (IX) incluem N,N'-diciclo-hexil-N"-aminoguanidina, N,N'-di-(adamantan-1-il)-N"-aminoguanidina, N,N'-di-(adamantan-2-il)-N"-aminoguanidina, N,N'-di-(2-norbornil)-N"-aminoguanidina e N,N'-di-(2-isobornil)-N"-aminoguanidina.

Preferivelmente, 0, 1, 2, 3 ou mais grupos polares definidos por X¹ e X² podem estar presentes nos grupos R de compostos que têm as Fórmulas (I)-(IX). São especialmente preferidos os compostos que têm as Fórmulas (I)-(IX) em que pelo menos um de entre R e R¹ representa um grupo adamantilo



substituído em 1 ou 2 ou um grupo acenaftilo substituído em 2 ou 5. Outros compostos especialmente preferidos são aqueles em que há um aumento de solubilidade em água. Tais compostos são aqueles em que pelo menos um de entre X^1 ou X^2 representa um grupo polar ou pelo menos um de entre R e R^1 é substituído por um grupo polar.

As guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento podem existir na forma de qualquer um dos numerosos isômeros tautoméricos. Qualquer um destes isômeros tautoméricos estão dentro do âmbito e alcance dos compostos que são úteis no invento reivindicado.

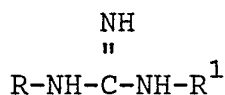
As guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento são eficazes moduladores de libertação de neurotransmissores a partir de células neuronais isquêmicas. A modulação da libertação de neurotransmissores envolve quer a inibição da libertação de neurotransmissores, a potenciação da libertação de neurotransmissores ou a modulação do decurso do tempo de acção dos neurotransmissores.

Os compostos do invento são inibidores eficazes se causarem pelo menos uma inibição de 50 % da libertação de neurotransmissores a uma concentração de cerca de 100 μ M, de acordo com o protocolo aqui revelado. Mais preferivelmente, os compostos causam pelo menos uma inibição de 50 % da libertação de neurotransmissores a uma concentração de cerca de 30 μ M. Os compostos do invento são potenciadores eficazes da libertação de neurotransmissores se causarem pelo menos uma potenciação de 50 % da libertação de neurotransmissores a uma concentração de cerca de 100 μ M. Mais preferivelmente, os compostos causam pelo menos

uma potenciação de 50 % da libertação de neurotransmissores a uma concentração de cerca de 30 μ M. Os compostos do invento são moduladores eficazes para cima e para baixo da cinética do decaimento de neurotransmissores se causarem uma passagem para o dobro ou para metade, respectivamente, da cinética da libertação de neurotransmissores. Por exemplo, os moduladores para cima eficazes podem causar uma passagem para o dobro da cinética do decaimento desde cerca de 100 ms (conforme observado para a componente tónica dependente de Ca^{2+} da libertação de glutamato) até cerca de 200 ms.

Os neurotransmissores que podem modular a libertação de neurotransmissores incluem, mas não se limitam, o glutamato, dopamina, norepinefrina, glicina, aspartato e serotonina. Um perito vulgar na técnica pode identificar os compostos que são moduladores eficazes da libertação de neurotransmissores utilizando os processos aqui revelados apenas com experimentação de rotina.

As guanidinas substituídas são o sujeito do pedido de patente copendente com o nº de série 07/237 367 apresentado em 29 de Agosto de 1988 e da Patente dos E.U.A. Nº 4 709 094, cujas revelações são aqui incorporadas por referência. As guanidinas preferidas na Patente dos E.U.A. Nº 4 709 094 são aí descritas pela fórmula:



em que R e R^1 representam, cada um independentemente, alquilo, cicloalquilo, arilo, alquilarilo ou aralquilo carboxílico. Como uma classe, estes compostos são descritos nesta patente como exibidores de uma actividade de ligação altamente selectiva ao

receptor do cérebro sigma. No pedido de patente copendente com o nº de série 07/237 367 é revelado que membros específicos adicionais desta classe de guanidinas dissustituídas exibem actividade de ligação alta para o receptor PCP.

Estas guanidinas dissustituídas em N e N' podem prontamente ser preparadas por reacções químicas convencionais, e.g., quando R e R¹ são iguais, por reacção da amina correspondente com brometo de cianogéneo. Outros métodos que podem ser empregues incluem a reacção de uma amina com um cicloalquil- ou aril-cianamida pré-formada. Ver S. R. Safer et al., J. Org. Chem., 13: 924 (1948). Este é o método de escolha para a produção de guanidinas dissustituídas em N e N' assimétricas. Para uma síntese recente de guanidinas assimétricas, ver G. J. Durant et al., J. Med. Chem., 28: 1414 (1985) e C. A. Maryanoff et al., J. Org. Chem., 51: 1882 (1986), cujas revelações são aqui incorporadas por referência.

Os compostos que têm as Fórmulas (VI) e (VII) podem ser preparados pela reacção de uma carbodiimida simétrica ou assimétrica com hidrazina num solvente orgânico (ver os Exemplos). Os compostos que têm as Fórmulas (VIII) e (IX) podem ser preparados pela reacção de uma carbodiimida simétrica ou assimétrica com hidrazina para dar uma adição 1:1. Ver Exemplo 2; Weygand e Hilgetat em Preparativ Organic Chemistry, Hilgetat e Martini (eds.), John Wiley & Sons, New York, NY, pág. 408 (1972); ou P. Vasilev et al., Chem. Abstr., 93: 150095u.

Os compostos do invento que suportam grupos R e R¹ que têm substituintes polares podem ser preparados utilizando os métodos acima referidos em que o material de partida (R-NH₂ ou R¹-NH₂) tem um grupo polar ou uma sua forma protegida. Os métodos para a preparação de tais materiais de partida são

pensados, por exemplo na U.S. Patent Nº 4 649 222, Morat e Rassat, Tet. Lett., 4561-4564 (1979); Sollott e Gilbert, J. Org. Chem., 45: 5405-5408 (1980) e W. W. Zajak et al., J. Org. Chem., 54: 2468-2471 (1989), cujas revelações são aqui incorporadas por referência no seu todo.

As N"-aminoguanidinas dissubstituídas em N e N' podem ser preparadas de acordo com qualquer dos métodos que são bem conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, A Patente Alemã Nº DE 2 452 691, R. Sunderdiek et al., Chem. Abstr., 81: 91439m (1974), K. J. Bent et al., Chem. Abstr., 74: 63479m (1971), Patente Alemã Nº DE 2 029 707, Huisgen et al., Chem. Abstr., 63: 2975d (1965), F. Kroeger et al., Chem. Abstr., 60: 9264f, L. Heinisch, J. Pract. Chem., 329: 290-300 (1987), C.-R. Kramer et al., Biochem. Physiol. Pflanzen., 178: 469-477 (1983), R. N. Prasad et al., Can. J. Chem. 45: 2247-2252 (1967), Huisgen et al., Chem. Ber., 98: 1476-1486 (1965), E. G. Podrebarac et al., J. Med. Chem., 6: 283-288 (1963), Kroger et al., Ber., 97: 396-404 (1964) e G. J. Durant et al., J. Med. Chem., 9: 22-27 (1966).

Num aspecto composicional, este invento diz respeito a uma composição farmacêutica em forma de dosagem unitária e adaptada para administração sistêmica a um indivíduo, e.g., um ser humano, que compreende, por unidade de dosagem, uma quantidade de uma guanidina substituída, aminoguanidina ou hidrazinodicarboximidamida tetrassubstituída em N, N', N" e N"' do invento, eficaz para modular a libertação de um neurotransmissor. Preferivelmente, o neurotransmissor é glutamato. Tais compostos são preferivelmente moduladores eficazes de libertação de neurotransmissores a partir de células neuronais isquêmicas.

Num outro aspecto composicional, este invento diz respeito a uma guanidina substituída, aminoguanidina ou

hidrazinodicarboximidamida tetrassubstituída em N, N', N'' e N''' do invento de neuroprotecção que modula a libertação de um neurotransmissor, em particular glutamato, e os seus sais fisiologicamente aceitáveis. Preferivelmente, tais compostos são moduladores eficazes de libertação de neurotransmissores a partir de células neuronais isquémicas.

Num aspecto do método, este invento diz respeito a um método para o tratamento ou prevenção de certas desordens neurológicas, que incluem a náusea que resulta de quimioterapia, as consequências de derrame cerebral ou injúria cerebral traumática, epilepsia ou doenças neurológicas, envenenamento por monóxido de carbono, envenenamento por cianeto, dano cerebral tóxico provocado por, por exemplo, tetrodotoxina ou toxinas de mariscos, ansiedade e oncocercíase, que compreende a administração de uma quantidade eficaz de uma guanidina substituída, aminoguanidina ou hidrazinodicarboximidamida tetrassubstituída em N, N', N'' e N''' do invento que inibe a libertação de um neurotransmissor a um indivíduo com necessidade de tal tratamento. Estas guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento podem ser bloqueadores não competitivos de libertação de neurotransmissores (e.g., glutamato). Preferivelmente, os compostos são inibidores eficazes da libertação de neurotransmissores a partir de células neuronais isquémicas.

Num outro aspecto do método, este invento diz respeito a um método para melhoria dos efeitos não tóxicos da isquemia, que compreende a administração a um indivíduo, e.g., um ser humano, que revela sintomas de ou susceptível a tais desordens isquémicas de uma guanidina substituída, aminoguanidina ou hidrazinodicarboximidamida tetrassubstituída em N, N', N'' e N'''

do invento que inibe a libertação de um neurotransmissor, numa quantidade eficaz para melhorar dos efeitos não tóxicos.

Num outro aspecto do método, o presente invento diz respeito a um método de tratamento da doença de Korsakoff, uma condição crônica induzida pelo alcoolismo, que compreende a administração a um mamífero de uma guanidina substituída, aminoguanidina ou hidrazinodicarboximidamida tetrassubstituída em N, N', N'' e N''' do invento, numa quantidade eficaz para tratar a doença. O pré-tratamento de animais com guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento pode atenuar marcadamente a extensão da perda celular, hemorragias e alterações de aminoácidos num modelo de ratazana da doença de Korsakoff. Ver P. J. Langlais et al., Soc. Neurosci. Abstr., 14: 774 (1988).

Num outro aspecto do método, o presente invento diz respeito a um método de tratamento ou prevenção da demência induzida pelo VIH (ou HIV) e cegueira induzida pelo VIH, que compreende a administração a um mamífero de uma guanidina substituída, aminoguanidina ou hidrazinodicarboximidamida tetrassubstituída em N, N', N'' e N''' do invento, numa quantidade eficaz para tratar a doença. Conforme revelado por Dreyer et al., Science, 248: 364-367 (1990), a neurotoxicidade da gp120 está associada com níveis aumentados de Ca^{2+} que são aparentemente mediados por aminoácidos excitadores que se ligam no local do receptor NMDA. Por conseguinte, as guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' encontrarão utilidade no tratamento ou prevenção da demência induzida pelo VIH (ou HIV) e cegueira induzida pelo VIH pela prevenção da libertação excessiva de glutamato.



As guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' encontrarão utilidade no tratamento ou prevenção de condições tratáveis pelo bloqueio dos canais do ião sódio, e.g., epilepsia. Ainda que o mecanismo de bloqueio da libertação de neurotransmissores não esteja ainda claramente definido, este composto pode antagonizar não os canais pré-sinápticos, mas, em vez disso, os canais de sódio nos, ou próximo dos, terminais do nervo. Ver S. J. Hays et al., Abstr. 201st Amer. Chem. Cos. Natl. Meeting, Med. Chem. Abstr., Nº 14 (1991). Em aditamento, certos agentes antiepilépticos, por exemplo, fenitoína [ibid; McLean e MacDonald, J. Pharmacol. Exp. Ther., 277: 779 (1990)] e lamotrigina [M. J. Leach et al., Epilepsia, 27: 490-497 (1986)] bloqueiam canais de sódio de um modo dependente do uso. Especificamente, inibem a capacidade dos neuónios sustentarem descargas repetitivas e a sua eficácia máxima ocorre sob situações em que ocorrem explosões de potenciais de acção mediadas por canal de sódio, tais como uma epilepsia. N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina é mostrada na Figura 8 a bloquear canais de sódio, em aditamento aos canais de cálcio pré-sinápticos. Esta acção dual pode ser uma propriedade desejável de agentes neuroprotectores, na medida em que eles podem ser bloqueadores mais eficazes de libertação de neurotransmissores. Além disso, a dependência do uso, capacidade para bloquear a libertação de glutamato e outros neurotransmissores que causam a despolarização sustentada de neurónios e/ou descarga repetitiva de potenciais de acção, pode ser uma propriedade desejável de agentes neuroprotectores.

Este invento também diz respeito ao tratamento de amnésia com os compostos do invento. O bloqueador de libertação de glutamato riluzole tem sido apresentado como preventor da perda de memória em animais isquémicos. Por conseguinte, espera-se que as guanidinas substituídas, aminoguanidinas e

hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento são também úteis para o tratamento ou prevenção da perda de memória.

O invento também diz respeito ao tratamento da enxaqueca com os compostos do invento. O bloqueador do canal de cálcio revelado na EP 0 266 574 é apresentado como útil para o tratamento da enxaqueca. Por conseguinte, espera-se que as guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento são também úteis para o tratamento ou prevenção de enxaquecas.

O invento também diz respeito ao tratamento ou prevenção da demência do enfarte múltiplo, uma deterioração progressiva da função cerebral e do intelecto devida a pequenos derrames cerebrais múltiplos ao longo do tempo. As guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento são também úteis no tratamento de pacientes idosos que sofrem de demência do enfarte múltiplo bem como de arteriosclerose.

Os métodos do presente invento podem ser praticados em qualquer animal, especialmente mamíferos e, mais particularmente, humanos. Contudo, tem-se a intenção de que qualquer animal que possa experimentar benefício da administração das guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento está dentro do domínio dos animais que podem ser tratados de acordo com o invento.

O novo método de rastreio de drogas do invento permite a identificação de drogas que podem ser antagonistas do canal de cálcio pré-sináptico e que inibem certos subcomponentes da

libertação de um neurotransmissor do tecido neuronal sujeito a isquemia.

Tais compostos que inibem a libertação de um neurotransmissor podem ser determinados por um método que envolve:

- (a) o contacto de sinaptossomas imobilizados que contêm neurotransmissores marcados radioactivamente com um composto suspeito de inibir a libertação do neurotransmissor;
- (b) a indução, por despolarização, da libertação do neurotransmissor marcado radioactivamente dos sinaptossomas imobilizados marcados radioactivamente obtidos no passo (a);
- (c) a lavagem dos sinaptossomas imobilizados marcados radioactivamente obtidos no passo (b) com um tampão que compreende o referido composto e o fraccionamento do efluente cada 15 a 500 ms; e
- (d) a detecção da quantidade relativa de neurotransmissor marcado radioactivamente em cada fracção por comparação com sinaptossomas de controlo que não foram expostos ao composto em questão;

em que uma quantidade reduzida de neurotransmissor marcado radioactivamente libertado nas fracções dos sinaptossomas tratados com o composto, relativa aos sinaptossomas de controlo, indica que o composto inibe a libertação do neurotransmissor.

Este método de rastreio de drogas requer que os sinaptossomas imobilizados sejam alojados numa câmara de superfusão que tem um muito pequeno volume morto para permitir a resolução num tempo da ordem do subsegundo. Tais câmaras de superfusão são ensinadas, por exemplo, na U.S. Patent Nº 4 891 185 e por T. J.

Turner et al., Anal. Biochem., 178: 8-16 (1989), cujas revelações são aqui inteiramente incorporadas por referência.

Este método também permite o rastreo de drogas que inibem selectivamente um subcomponente dependente de Ca^{2+} ou independente de Ca^{2+} de libertação de neurotransmissores. Como se mostra na Figura 1, há componentes não só fásicas mas também tónicas da libertação de glutamato na presença de Ca^{2+} e de uma componente independente de Ca^{2+} que pode ser vista na ausência de Ca^{2+} . Preferivelmente, as drogas identificadas são as que inibem selectivamente a componente tónica dependente de Ca^{2+} da libertação de glutamato. Tais drogas podem ser identificadas realizando o ensaio na presença de Ca^{2+} e da droga em questão. Preferivelmente, a concentração de Ca^{2+} é $>50 \mu\text{M}$. Mais preferivelmente, a concentração de Ca^{2+} é cerca de 2 mM. A inibição selectiva da componente tónica da libertação de neurotransmissores indica que a droga pode ser particularmente eficaz na prevenção da perda neuronal devida a isquemia e no tratamento de outras condições patofisiológicas que são consequência de níveis elevados de libertação de neurotransmissores, tais como glutamato.

Preferivelmente, os sinaptossomas são imobilizados. Os métodos para a preparação de células imobilizadas são ensinados, por exemplo, nas U.S. Patents Nos. 4 390 627, 4 212 943 e 4 337 313, cujas revelações são aqui inteiramente incorporadas por referência. Mais preferivelmente, os sinaptossomas são imobilizados na matriz de um filtro, conforme mais completamente se descreve a seguir, num alojamento com um volume morto muito pequeno, e um tampão fisiológico é passado através dele. O efluente é em seguida fraccionado ao longo de períodos de tempo muito curtos (15 a 500 ms) e as quantidades relativas de neurotransmissor marcado radioactivamente (preferivelmente glutamato) em cada fracção são determinadas. Um gráfico da quantidade de



glutamato marcado radioativamente ao longo do tempo dá a medida da capacidade do composto inibir a libertação de neurotransmissor. Um exemplo de um tal gráfico é mostrado na Figura 2.

Um mais detalhado, mas não limitante, protocolo é como se segue:

- (a) o contacto de sinaptossomas do cérebro com glutamato marcado radioativamente durante um tempo suficiente para permitir a captação do glutamato marcado radioativamente via sistema de captação de glutamato dependente de Na, para dar sinaptossomas marcados radioativamente;
- (b) preparação de uma suspensão dos sinaptossomas marcados radioativamente obtidos no passo (a) num tampão fisiológico e a passagem da suspensão através da matriz de um filtro para aprisionar os sinaptossomas marcados radioativamente;
- (c) a lavagem dos sinaptossomas imobilizados marcados radioativamente obtidos no passo (b) com um tampão fisiológico;
- (d) o contacto dos sinaptossomas imobilizados marcados radioativamente obtidos no passo (c) com um composto suspeito de ser um inibidor da libertação de glutamato;
- (e) a despolarização das membranas dos sinaptossomas imobilizados marcados radioativamente obtidos no passo (d);
- (f) a lavagem dos sinaptossomas imobilizados marcados radioativamente obtidos no passo (c) com um tampão fisiológico que compreende o composto orgânico em questão e o fraccionamento do efluente todos os 15 a 500 ms; e

- (g) a detecção da quantidade relativa de glutamato marcado radioativamente em cada fracção por comparação com o efluente de controlo que não foi exposto ao composto em questão.

Onde existe uma quantidade reduzida de glutamato marcado radioativamente nas fracções de efluente de sinaptossomas tratados com o composto relativa aos sinaptossomas de controlo, o composto é um inibidor da libertação de glutamato. Como se discutiu anteriormente, o ensaio pode ser conduzido na presença e ausência de Ca^{2+} e a cinética da componente dependente de Ca de libertação de neurotransmissor pode ser analisado para determinar o efeito dos compostos nas três subcomponentes da libertação de glutamato.

No método anterior, os sinaptossomas são isolados e marcados radioisotopicamente com um neurotransmissor marcado radioativamente. Os sinaptossomas marcados radioativamente são em seguida imobilizados na matriz de um filtro e deixados equilibrar com uma solução de tampão fisiológico que flui na câmara da amostra através de uma válvula. Esta válvula é em seguida fechada simultaneamente com a abertura de uma segunda válvula que permite que uma solução fisiológica que compreende o composto de teste orgânico fluir através da matriz de um filtro e o contacto com os sinaptossomas imobilizados. A segunda válvula é em seguida fechada simultaneamente com a abertura de uma terceira válvula que compreende uma substância, com ou sem Ca^{2+} , que causa a despolarização das membranas dos sinaptossomas, conjuntamente com o composto de teste orgânico. A terceira válvula é em seguida fechada simultaneamente com a abertura da segunda válvula. Durante todo o período de superfusão, o efluente que compreende cada tampão fisiológico, composto de teste e glutamato marcado radioativamente é continuamente fraccionado. Este

método permite a rápida medida cinética da libertação de glutamato marcado radioactivamente dos sinaptossomas. Facultativamente, uma ou mais das soluções de teste que compreendem $>50 \mu\text{M}$ em Ca^{2+} podem ser libertadas através da terceira válvula.

O sinaptossomas podem ser obtidos de qualquer animal, incluindo a ratazana. Eles podem ser isolados de acordo com o Exemplo 3, mais à frente, ou de acordo com Gray e Whittaker J. Anat., 96: 79-88 (1962), ou Suszkiw et al., J. Neurosci., 6: 1349-1357 (1986).

Qualquer forma dos neurotransmissores marcada radioactivamente pode ser utilizada na prática do ensaio de rastreio incluindo neurotransmissores marcados com ^3H e ^{14}C . Quer o glutamato marcado com ^3H quer com ^{14}C estão comercialmente disponíveis.

Os sinaptossomas imobilizados são postos em contacto com o neurotransmissor marcado radioactivamente durante um tempo suficiente para permitir a captação do neurotransmissor marcado radioactivamente pelos sinaptossomas. Um tempo preferido é cerca de 10 minutos.

O tampão fisiológico pode ser qualquer tampão conhecido pelos peritos vulgares na técnica que seja compatível com os sinaptossomas. Ver Exemplo 3 (tampão basal); Gray e Whittaker, J. Anat., 96: 79-88 (1962); ou Suszkiw et al., J. Neurosci., 6: 1349-1357 (1986).

Os filtros que podem ser utilizados para imobilizar os sinaptossomas são matrizes de fibras orientadas aleatoriamente ou contas sob pressão, moídas, ou, doutro modo, ligadas conjuntamente num labirinto tortuoso de canais de fluxo (definição obtida de

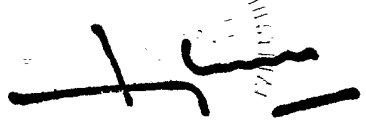


Millipore Corp. Catalogue and Purchasing Guide, Lit. Nº PA085, impresso em 9/85). Um filtro de profundidade é capaz de imobilizar o substrato numa matriz tridimensional permitindo assim que uma quantidade máxima de sinaptossomas seja carregado no filtro sem causar um bloqueio (colmatação) do fluxo da solução. Os filtros de profundidade preferidos são os filtros de fibra de vidro tais como os filtros Whatman GF/F; podem também ser utilizados filtros de cerâmica. Os filtros de fibra de vidro são particularmente desejáveis devido à sua flexibilidade, inércia química e baixo custo. Um filtro Millipore SC pode ser utilizado para manter a integridade dos filtros de fibra de vidro. Ver T. J. Turner et al., Anal. Biochem., **178**: 8-16 (1989), aqui incorporado por referência, para uma descrição detalhada do sistema de superfusão e a configuração do filtro para a imobilização de sinaptossomas.

A concentração do composto orgânico de teste no tampão fisiológico pode variar desde 0 até cerca de 1 mM, mais preferivelmente desde 0 até cerca de 100 μ M. Se a guanidina não for solúvel num tampão fisiológico, então uma quantidade equivalente de um sal solúvel farmacologicamente aceitável do composto orgânico, conforme aqui revelado, pode ser utilizado.

As razões de fluxo das soluções fisiológicas e das soluções de teste deverão ser de pelo menos 0,1 mL/s. Preferivelmente, a razão de fluxo é cerca de 1,0 mL/s.

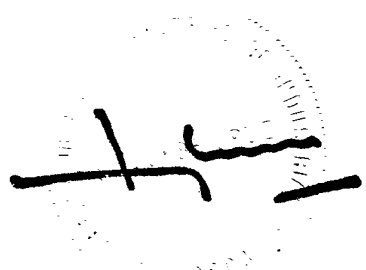
A indução da libertação do neurotransmissor pode ser realizada pela despolarização das membranas dos sinaptossomas por contacto com concentrações relativamente altas de catiões, tais como K^+ , ou pela aplicação de uma voltagem através dos sinaptossomas. Alternativamente, a libertação do neurotransmissor pode ser induzida por contacto dos sinaptossomas com veratramina. A



concentração de K^+ necessária para causar a despolarização pode variar desde cerca de 10 até cerca de 150 mM. Uma concentração preferida é cerca de 110 mM (como KCl). A voltagem de transmembrana correspondente necessária para causar a despolarização pode variar desde cerca de -40 mV até cerca de 60 mV.

As fracções de efluente podem ser recolhidas utilizando quaisquer meios que permitam a recolha de fracções ao longo de períodos de tempo tão curtos como cerca de 15 ms. As fracções podem ser recolhidas numa série de tubos separados ou podem ser continuamente aplicadas a um substrato absorvente tal como um papel de filtro. Preferivelmente, as fracções são recolhidas com o instrumento de superfusão descrito nos Exemplos presentes e revelados na U.S. Patent Nº 4 891 185, cujo conteúdo é aqui completamente incorporado por referência. Em geral, o efluente é recolhido em frascos posicionados em espiral numa mesa rotativa que roda a 16, 33, 45 e 78 rpm, dando 3,75, 1,82, 1,33 e 0,77 segundos por rotação. Cinquenta frascos de recolha em cada espiral isolada permite a recolha de fracções em intervalos tão longos como 66 ms ou tão curtos como 15 ms.

Os compostos deste invento podem ser administrados intranasalmente, oralmente ou por injeção, e.g., injeção intramuscular, intraperitoneal ou intravenosa ou por meio transdérmico, intraocular ou entérico. A dose óptima pode ser determinada por meios convencionais. Devido a muitas das guanidinas substituídas empregues neste invento serem substancialmente insolúveis em água, elas são normalmente administradas na forma protonada, e.g., na forma de um sal farmacêuticamente aceitável de um ácido orgânico ou inorgânico, e.g., hidrocloreto, sulfato, hemi-sulfato, fosfato, nitrato, acetato, oxalato, citrato, malato, etc..



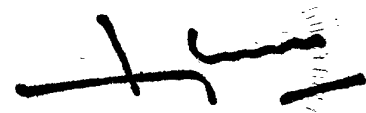
Os compostos deste invento podem ser empregues em mistura com excipientes convencionais, i.e., substâncias agentes de suporte orgânicas ou inorgânicas farmacêuticamente aceitáveis adequadas para aplicação parentérica, entérica ou intranasal que não reajam deletériamente com os compostos activos. Os agentes de suporte farmacêuticamente aceitáveis incluem, mas não se limitam, água, soluções de sal, álcool, óleos vegetais, polietileno-glicóis, gelatina, lactose, amilose, estearato de magnésio, talco, ácido silícico, parafina viscosa, óleo de perfume, monoglicerídeos e diglicerídeos de ácido gordo, ésteres de ácidos gordos em éter de petróleo, hidroximetilcelulose, polivinilpirrolidona, etc.. As preparações farmacêuticas podem ser esterilizadas e, se desejado, misturadas com agentes auxiliares, e.g., lubrificantes, conservantes, estabilizantes, agentes molhantes, emulsificantes, sais para influenciar a pressão osmótica, tampões, corantes, aromatizantes e/ou substâncias aromáticas e semelhantes que não reajam deletériamente com os compostos activos.

Para aplicação parentérica, são particularmente adequadas soluções, preferivelmente soluções oleosas ou aquosas bem como suspensões ou implantes, incluindo supositórios. As ampolas são dosagens unitárias convenientes.

Para aplicação entérica, são particularmente adequados os comprimidos, drageias ou cápsulas que têm talco e/ou um agente de suporte de hidrato de carbono ligante ou semelhante, sendo o agente de suporte preferivelmente lactose e/ou amido de milho e/ou amido de batata. Um xarope, elixir ou semelhante pode ser usado, em que é empregue um veículo adoçante. As composições de libertação sustentada podem ser formuladas, incluindo aquelas em que o componente activo está protegido com revestimentos

diferencialmente degradáveis, e.g., por microencapsulamento, revestimentos múltiplos, etc..

As administrações intravenosas ou parentéricas, e.g., subcutâneas, intraperitoneais ou intramusculares, são preferidas. Os compostos deste invento são particularmente valiosos no tratamento de indivíduos mamíferos, e.g., humanos. Tipicamente, tais indivíduos incluem os que sofrem ou parecem sofrer de disfunções do sistema nervoso que resultam de, por exemplo, epilepsia ou degenerescência da célula nervosa que resulta de hipoxia, hipoglicemia, trauma cerebral ou da medula espinal ou isquemia cerebral ou da medula espinal. Os candidatos típicos para o tratamento incluem pacientes de ataque cardíaco, derrame cerebral, lesão cerebral ou da medula espinal, pacientes sujeitos a cirurgia em que a isquemia cerebral é uma complicação potencial, pacientes [mergulhadores] que sofrem da enfermidade da descompressão devido a embolia gasosa na corrente sanguínea, vítimas de afogamento e pacientes que sofrem de envenenamento por monóxido de carbono, envenenamento por cianeto e dano cerebral tóxico provocado por ingestão de tetrodotoxina ou toxina de marisco. Outros candidatos incluem pacientes que sofrem de amnésia, enxaqueca e demência do enfarte múltiplo. Outros candidatos para o tratamento incluem os pacientes afligidos por doenças neurodegenerativas tais como doença de Huntington, Esclerose Lateral Amiotrófica, doença de Alzheimer, Síndrome de Down, atrofia olivopontocerebelar e doença de Korsakoff. Em aditamento, os indivíduos infectados pelo VIH (ou HIV) podem ser tratados com as guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento para tratar ou prevenir a demência associada ao VIH (ou HIV) e cegueira induzida pelo VIH. Além disso as guanidinas substituídas, aminoguanidinas e hidrazinodicarboximidamidas tetrassubstituídas em N, N', N'' e N''' do invento podem ser



administradas aos pacientes que são susceptíveis a desordem de ansiedade generalizada (GAD) de modo a tratar ou prevenir a ansiedade.

Os compostos do invento podem também ser empregues em soluções de crioconservação para tecidos, órgãos ou animais. Os compostos do invento em tais soluções podem ser eficazes na redução da quantidade de perda neuronal associada com o congelamento de tecidos, órgãos ou animais.

Agradecer-se-á que as quantidades actualmente preferidas dos compostos activos utilizados variarão de acordo com o composto específico a ser utilizado, as composições particulares formuladas, o modo de aplicação e o local particular de administração. A razão de administração óptima para um dado protocolo de administração pode ser prontamente determinado pelos peritos na técnica utilizando testes de determinação de dosagem convencionais conduzidos com respeito das orientações anteriormente dadas.

Como as guanidinas das U. S. Patents Nos. 1 411 713, 1 422 506 e 1 597 233, as guanidinas substituídas e compostos relacionados do presente invento podem também ser utilizados como aceleradores de borracha.

Sem outra elaboração, acredita-se que um perito na técnica pode, utilizando a memória descritiva precedente, utilizar o presente invento em toda a sua amplitude. As seguintes encorporações específicas preferidas são, por conseguinte, para serem tidas em conta como meramente ilustrativas e não limitativas do restante da revelação qualquer que seja o caminho.

Os textos inteiros de todos os pedidos de patente, patentes e publicações anteriormente e posteriormente citados são aqui incorporados por referência.

EXEMPLOS

Exemplo 1

Síntese de hidrocloreto de N,N'-(adamant-2-il)guanidina

2-Adamantilcianamida

Hidrocloreto de 2-adamantanamina (25 g; 133,2 mmol; Aldrich) foi repartido entre 200 mL de tolueno e 200 mL de hidróxido de sódio 1 N e a mistura foi agitada durante 30 minutos. As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com tolueno (75 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (100 mL), secas (sulfato de magnésio) e o filtrado resultante foi utilizado tal qual (a quantidade de 2-adamantanamina foi assumida como sendo 133 mmol). A esta solução arrefecida em gelo foi adicionada gota a gota com agitação uma solução de brometo de cianogénio (8,74 g; 82,5 mmol) em 25 mL de tolueno. À medida que a adição prosseguia, formou-se um precipitado. Após a adição do brometo de cianogénio se completar, a mistura de reacção foi deixada arrefecer até à temperatura ambiente e agitada durante duas horas mais. O precipitado foi separado por filtração e o filtrado foi concentrado em vácuo para se obter 10 g de um sólido amarelo claro. O produto cru foi recristalizado (metanol/água) e o produto foi seco em vácuo (1 torr, sobre pentóxido de fósforo/hidróxido de potássio) para dar 9,04 g (62 % de rendimento) do produto desejado.

Hidrocloreto de N,N'-(adamant-2-il)guanidina

Uma mistura de 2-adamantilcinamida (3,4 g; 19,35 mmol) e hidrocloreto de 2-adamantanamina (2,9 g; 15,48 mmol) foi aquecida num banho de óleo a 205 °C sob uma atmosfera de árgon. A mistura fundiu gradualmente até dar um resíduo semi-sólido (mas nuna produziu uma fusão límpida) e, em seguida, solidificou. A mistura de reacção foi deixada arrefecer e metanol (30 mL) e água (30 mL) foram em seguida adicionados ao sólido. A mistura foi filtrada e o sólido obtido foi aquecido com metanol (150 mL) e o material insolúvel foi removido por filtração gravítica. O filtrado foi clarificado com carvão vegetal activado e foi concentrado em vácuo para produzir um sólido branco. Este material foi dissolvido em 150 mL de etanol em ebulição e a solução resultante foi concentrada sobre uma placa quente para dar 60 mL. Ao arrefecer, ocorreu uma cristalização para dar 3 g de produto que foi em seguida recristalizado de novo, mas desta vez a partir de etanol e água, para dar (após secagem em vácuo sobre pentóxido de fósforo a 65 °C durante 24 horas) 2,92 g de hidrocloreto de N,N'-(adamant-2-il)guanidina.

P.F. > 340 °C;

análise calculada para $C_{21}H_{34}N_3Cl$:

C - 67,08; H - 9,11; N - 11,18;

encontrado: C - 67,21; H - 9,26; N - 11,34.

Exemplo 2

Síntese de N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida

DCC [díciclo-hexilcarbodiimida; (1,03 g; 4,97 mmol)]

foi dissolvida em tetra-hidrofurano (15 mL). Hidrazina (135 mg; 4,22 mmol) foi adicionada via seringa. A agitação durante 30 horas à temperatura ambiente produziu uma mistura amarela límpida que foi evaporada até dar um pó branco (922 mg). Uma solução deste pó em éter dietílico, filtração e acidificação com cloreto de hidrogénio (60 mL de éter dietílico saturado) deu um precipitado amarelo-branco (856 mg). Duas recristalizações (etanol numa câmara de éter dietílico) deu prismas brancos;

(133 mg; 18 %; p.f. 288-290 °C).

A baixa percentagem de azoto na análise elementar deste composto indica que dois equivalentes de DCC reagiram com hidrazina, formando o composto mencionado em título.

^1H -RMN ($[\text{H}]$ [-CH₃OH) δ 3,21 (s, 4, ciclo-hexilo que suporta N); 2,0-1,5 (m, 44, ciclo-hexilos).

^{13}C -RMN ($[\text{H}]$ [-CH₃OH) δ 154,1 (guanidina), 51,7 (ciclo-hexilo que suporta N); 32,4 e 24,8 (ciclo-hexilos).

IV mostra picos em 1639 e 1589 cm⁻¹.

Análise elementar (C₂₆N₆H₅₀Cl₂·½H₂O):

teórico: C - 59,30; H - 9,76; N - 15,96;
encontrado: C - 58,94; H - 9,76; N - 16,01.

Exemplo 3

Protocolo Básico para a Preparação de Sinaptossomas e Superfusão

Soluções:

solução de sacarose 0,32 M

solução de sacarose 0,80 M

[Handwritten signature]

Tampão basal - tem a seguinte composição:

NaCl	147 mM
KCl	3 mM
HEPES	10 mM
Dextrose	10 mM
MfCl ₂	1,2 mM
EGTA-TRIS	1 mM
pH	7,4

Tampão de K⁺ alto

NaCl	95 mM
KCl	55 mM.

O resto dos componentes em tampão de K⁺ alto são da mesma composição que no tampão Basal. Para estudar a liberação de ³H-glutamato total, é adicionado Ca²⁺ ao tampão de K⁺ alto a 2,4 mM.

Para estudar a liberação de ³H-glutamato pré-sináptico, foram usados sinaptossomas de ratazanas jovens. Ratazanas CD machos de 4 a 6 semanas (50-75 g) foram utilizadas para a preparação de sinaptossomas. As ratazanas foram mortas por decapitação com guilhotina e o osso craniano foi aberto no centro com a lâmina ponteaguda de tesoura de dissecação. O osso é em seguida descascado com um cortador de osso e o cérebro é em seguida extraído com uma microespátula. O cerebelo é removido e o resto do cérebro é colocado em 35 mL de solução de sacarose 0,32 M e homogeneizado num homogeneizador C de teflon de vidro Thomas na posição de potência máxima (cerca de 450 rpm) com 16 golpes. O dispositivo de homogeneização é lavado com 5 mL de solução de sacarose e adicionado ao homogenato. O homogenato é centrifugado durante 10 minutos a 3500 rpm (1500 g) num rotor SS-34 em Sorvall RC-5B. O pelete resultante (P₁) é descarregado e o sobrenadante

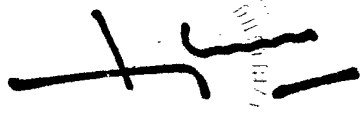
(S₁) é recentrifugado durante 20 minutos a 8700 rpm (8500 g). O sobrenadante (S₂) é descarregado e o pelete (P₂) é ressuspense em 5 mL de sacarose 0,32 M e homogeneizado à mão com 4 golpes (Thomas C) e o volume foi ajustado até 8 mL. Este homogenato foi acamado em 20 mL de solução de sacarose 0,8 M em dois tubos de centrifugação e girado durante 25 minutos a 8700 rpm (8500 g). No fim desta centrifugação, a maior parte da mielina fica na interfase de sacarose 0,32 M e 0,8 M e o pelete mitocôndrico na forma de um pelete castanho. Os sinaptossomas são dispersos numa solução de sacarose 0,8 M. Utilizando uma pipeta de 10 mL, a camada de sacarose 0,8 M é recolhida (sem perturbar a camada de mielina de cima ou o pelete) e lentamente diluída com um volume igual de tampão basal arrefecido, enquanto se agita suavemente com uma pipeta de Pasteur. Esta solução diluída é centrifugada durante 10 minutos a 10 000 rpm (12 000 g) e o pelete é ressuspense em 1,5 mL de tampão basal e homogeneizado à mão num homogeneizador de 7 mL de vidro-vidro Wheaton com 8 golpes.

DILUIÇÃO DA PREPARAÇÃO DE SINAPTOSSOMA PARA SUPERFUSÃO

O homogenato sinaptossómico é diluído de 1 mL para 10 mL com tampão basal. Esta diluição dá uma concentração de proteína de 500 a 600 µg/mL. Cem µL desta preparação diluída com 50-60 µg de proteína é usada para cada situação de superfusão. Esta quantidade de proteína verifica-se ser óptima para uma retirada por lavagem do traçador radioactivo libertado. A solução sinaptossómica diluída foi mantida em gelo até ao fim do experimento.

CARGA DOS SINAPTOSSOMAS COM ³H-GLUTAMATO

³H-Glutamato (comprado em NEN) é guardado no



frigorífico. Pipetar 6 μL (6 Ci; 40 a 50 Ci/mmol) num tubo de ensaio disponível. Adicionar 100 μL da preparação diluída e misturar suavemente em turbilhão e incubar a 30 °C durante 10 minutos. O ^3H -glutamato é recebido pelo transportador glutamato acoplado a sódio presente nas membranas sinaptossômicas. Após 10 minutos, diluir a mistura de incubação com 600 μL de tampão basal. Esta solução é em seguida transferida para um entubamento de Tygon que é ligado à câmara de carga de sinaptossomas. Utilizando uma seringa de enchimento com ar, a solução é forçada através de uma «sandwich» de filtros Millipore SC - GF/F - Millipore SC. Estes filtros retêm os sinaptossomas e a solução flui através deles.

CÂMARA DE CARGA

A câmara de carga é montada a partir de um conector tubo-tubo "General Valve". Uma extremidade é ligada a um encaixe barbado que por sua vez é ligado a um tubo Tygon 12 gm e serve como entrada da câmara. Na outra extremidade do conector está ligada a montagem de filtro. A montagem de filtro é constituída por um lavador de aço inoxidável com uma parte plana em frente do filtro, um filtro Millipore SC, disco filtro de cinco pontos de vidro Whatman GF/F com grelha de frente para o fluxo, outro filtro SC seguido por um crivo de aço inoxidável e um lavador de aço inoxidável com uma parte plana de frente para o crivo. Esta montagem é segura com uma noz de teflon. Depois dos sinaptossomas serem carregados, desaparafusando a noz e batendo-a na bancada, o filtro sandwich pode ser desalojado.

SUPERFUSÃO

Uma componente importante da instalação de superfusão é

câmara de superfusão operada por um solenóide de três válvulas "General Valve" com um revestimento feito de aço inoxidável com uma saída para o efluente. As três entradas são ligadas aos reservatórios tampões de aço inoxidável que contêm (1) tampão de lavagem, (2) tampão de controlo e (3) tampão experimental que são mantidos sob 40 psi ($2,76 \cdot 10^3$ Pa) de gás azoto através de ligações de tubagem de teflon. A superfusão é controlada através de um programa de menu guiado num computador Apple IIe. Ver J. T. Turner et al., Anal. Biochem., 178: 8-16 (1989) e U.S. Patent Nº 4 891 185, cujas revelações são aqui inteiramente incorporadas por referência.

A câmara de superfusão tem um mancal de teflon e um lavador de aço inoxidável fixado com a superfície plana frete aos filtros. Um disco de filtro GF/B é colocado em primeiro lugar na câmara para eliminar os artefactos relacionados com a ligação. A sandwich carregada com sinaptossomas é em seguida colocada pondo os sinaptossomas de frente para o fluxo seguida por um filtro RA, crivo de aço inoxidável e um lavador com a parte plana de frente para o crivo. Esta montagem é fixa com uma noz de teflon que tem duas camadas de tubagem de teflon fixadas por dentro com epoxi para reduzir o volume morto e melhorar o fluxo de efluente.

O protocolo do horário pode ser variado, tendo presentes as necessidades do experimento em particular. Antes da superfusão, os sinaptossomas são sujeitos a duas lavagens de 5 segundos com tampão basal, com um caudal de cerca de 1,2 mL/s, e o efluente é recolhido para controlo radiactivo. Depois da lavagem, a saída é centrada nos frascos de recolha das fracções. Um protocolo típico (com 16 rpm) consiste de uma primeira superfusão de 1,08 s com tampão basal e ligação para um tampão de K^+ alto durante 2,1 s e um regresso ao tampão basal durante o tempo restante. Escolhendo "Do the superfusion" (Faça a superfusão)

do meno e activando por retorno, o efluente flui para os frascos sobre um tabuleiro tipo gira-discos em rotação.

RECOLHA DO EFLUENTE

Isto é feito utilizando um prato de gira-discos que roda a 16, 33, 45 e 78 rpm, dando 3,75, 1,82, 1,33 e 0,77 segundos para cada rotação. No prato está um tabuleiro com 50 cavidades uniformemente escavadas num círculo para admitirem os frascos de vidro para recolha do efluente. Assim, dependendo das rotações por minuto do gira-discos, podem-se recolher fracções em períodos tão longos como de 66 ms ou tão curtos como de 15 ms.

A ocorrência da superfusão e a recolha de fracções são sincronizadas com um interruptor de palheta magnético que é activado por um magneto permanentemente fixado ao gira-discos. Se o caudal for de 1,25 mL/s, a 33 rpm, cada fracção é de 45 μ L.

Às fracções é adicionado um mL de "Hydrofluor" (National Diagnostics, Manville, NJ) e as fracções são contadas num contador de cintilação líquida. Após a superfusão, todos os filtros são retirados da câmara e suspensos em 1 mL de fluido de contagem e contados depois de serem colocados durante a noite numa plataforma de agitação e contados no dia seguinte.

ANÁLISE DE DADOS

É utilizado o Lotus 123 para se analisarem os dados. O contador de cintilação líquida dá directamente a cpm média. Utilizando uma folha de cálculo, as contagens entram em função do tempo (e número fraccionário). Na coluna seguinte a contagem de base do contador é subtraída de cada fracção. Todas as contagens são somadas, incluindo as retidas no filtro. Isto representa a

quantidade total captada pelos sinaptossomas. A partir desta soma, cada fracção é calculada como a libertação percentual e representada em gráfico contra o tempo. Este gráfico mostrará claramente o padrão de base, abertura de válvula e libertação de traçador. A marcação destes resultados líquidos contra o tempo das 3 válvulas dá a libertação líquida de guanidina radiomarcada em resposta ao tampão experimental como função do tempo.

A Figura 1 mostra um gráfico da libertação de ^3H -glutamato de sinaptossoma do cérebro da ratazana que foi carregado com ^3H -glutamato durante 10 minutos a 30°C . Os sinaptossomas ($50\text{ }\mu\text{g}$ de proteína) foram carregados na câmara de superfusão e lavados durante 10 segundos com o tampão basal que continha NaCl 145 mM e KCl 5 mM . A superfusão foi em seguida imediatamente iniciada. No instante 0, os sinaptossomas foram despolarizados por ligação a um tampão de K alto (NaCl 40 mM , KCl 110 mM). A curva superior da Figura 1 indica a libertação evocada na presença de Ca^{2+} $2,4\text{ mM}$. A curva inferior revela a libertação evocada na presença de tampão livre de Ca . Os dados são expressos como percentagem do ^3H -glutamato associado total libertado em cada fracção de 72 mili-segundos recolhida. As barras de erro são para determinações em triplicado.

Exemplo 4

Ensaio para a Inibição da Libertação de Glutamato

As drogas experimentais são em primeiro lugar dissolvidas em metanol para fazer uma reserva de 20 mM . Esta solução é diluída no tampão basal bem como em tampão de K^+ alto para dar a concentração necessária desta droga. Todas as soluções que incluem os controlos são feitas para terem a mesma concentração de metanol. A concentração de metanol nunca excedeu $0,3\%$ (v/v)

dos tampões. Os sinaptossomas são em primeiro lugar expostos às drogas durante a lavagem antes da superfusão e também durante o protocolo de superfusão. O tempo total em que os sinaptossomas foram expostos aos compostos orgânicos de teste antes da libertação de glutamato foi inferior a 25 segundos.

A Figura 2 representa um gráfico que mostra o efeito de N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina 0 μM , 10 μM , 30 μM e 100 μM sobre a libertação de ^3H -glutamato a partir de sinaptossomas de cérebro de ratazana. As mesmas concentrações de guanidina foram mantidas em todas as soluções de superfusão. Os resultados são representados em gráfico em termos de quantidade acumulada de libertação de glutamato num único pulso de despolarização de K^+ de 2,1 s, como a percentagem de glutamato radioactivo total carregado nos sinaptossomas. Como se torna claro a partir da Figura 2, o aumento das concentrações de N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina resultou na diminuição da libertação de glutamato a partir dos sinaptossomas.

Seguindo o processo anterior, foram rastreados numerosos outros compostos em relação à actividade inibidora da libertação de glutamato. Os níveis relativos de libertação de glutamato na presença destes compostos do invento aparecem no Quadro I.

Quadro I

<u>Composto</u>	<u>30 μM¹</u>	<u>100 μM¹</u>
N,N'-di-(<u>o</u> -tolil)guanidina	nd ²	91
N,N'-di-(2-iodofenil)guanidina	nd	61
N,N'-di-(3-metilfenil)guanidina	nd	106
N-ciclo-hexil-N'-(2-metilfenil)- guanidina	100	nd
N-(adamantan-1-il)-N'-ciclo-hexil- guanidina	120	nd
N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina	45	13
N-(adamantan-1-il)-N'-(2-iodo- fenil)guanidina	39	nd
N-(adamantan-1-il)-N'-(2-metil- fenil)guanidina	52	45
N-(adamantan-2-il)-N'-(2-iodo- fenil)guanidina	74	nd
N-(adamantan-2-il)-N'-(2-metil- fenil)guanidina	100	nd
N-[($\pm$)-endo-2-norbornil]-N'-(2- iodofenil)guanidina	77	nd
N,N'-di-(adamantan-2-il)guanidina	40	20
N,N'-di-(1-naftil)guanidina	19	29
N-(α -naftil)-N'-(2-iodofenil)- guanidina	77	nd
N-(3-etilfenil)-N'-(1-naftil)- guanidina	59	nd
di-(<u>o</u> -metil)benzilamina	100	nd
N,N'-di-(3-etilfenil)-N-metil- guanidina	88	nd
N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil- -hidrazinodicarboximidamida	51	nd
N-(1-naftil)-N'-(<u>o</u> -isopropil- fenil)guanidina	100	nd
N-(1-naftil)-N-metil-N'-(<u>o</u> -iso- propilfenil)guanidina	95	nd
N-(1-naftil)-N'-(<u>m</u> -etilfenil)- -N'-metilguanidina	76	21
Controlo	100	100

(¹) - Concentração

(²) - nd = não realizado.

A Figura 3 representa um gráfico que mostra o efeito de N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina 0 μM , 1 μM , 3 μM e 10 μM ao longo

do tempo sobre a libertação de ^3H -glutamato dependente de Ca^{2+} a partir de sinaptossomas radiomarcados depois de despolarização por K^+ (no instante 0). A Figura 3 indica que este composto é um potente inibidor da libertação de glutamato a partir de preparações de terminal nervoso do cérebro. Em concentrações de 3-10 μM , bloqueia a componente persistente da libertação de glutamato dependente de Ca^{2+} mais do que a componente transiente inicial.

Exemplo 5

Correlação Entre a Inibição da Captação de Ca com a Inibição da Libertação de Glutamato

Vários compostos foram também testados para determinar se as componentes de libertação de glutamato dependente de Ca^{2+} e independente de Ca^{2+} estão relacionadas com o bloqueio da captação de ^{45}Ca . A captação de cálcio é um passo na cascata de eventos que ocorrem na morte da célula neuronal depois de isquemia. Ver Bassacclough e Leach, Current Patents Ltd, 2-27 (19__). O protocolo de fluxo de Ca é o seguinte.

Sinaptossomas de cérebro de ratazana foram preparados de acordo com Hajos, Brain Res., 93: 485 (1975). Os sinaptossomas foram suspensos em tampão "LK" (tampão de potássio baixo) (que continha KCl 3 mM) a 2 mg/mL. As drogas em LK foram adicionadas aos sinaptossomas até uma concentração final de 10 μM e incubados durante 5 minutos à temperatura ambiente. A captação de ^{45}Ca foi em seguida medida por adição de isótopo a tampão que continha ou potássio baixo ou potássio alto (KCl 150 mM). Após 5 segundos, o fluxo de ^{45}Ca foi parado com 0,9 mL de solução de paragem (LK + EGTA 10 mM). A solução foi filtrada sob vácuo e os filtros foram lavados com 15 mL de tampão de paragem. O efeito da droga é expresso como a % de inibição (ou bloqueio) de influxo

de ^{45}Ca estimulado por potássio de controlo. Este método é uma adaptação do método revelado por Nachsen e Blaustein, J. Physiol., 368: 251-268 (1985).

Como se mostra na Figura 4, há uma correlação linear estreita entre a inibição da captação de ^{45}Ca sinaptossómico e a inibição da componente tónica da libertação de glutamato por N-(adamantan-1-il)-N'-(2-metilfenil)guanidina (nº 1), N-(1-naftil)-N'-(m-etilfenil)-N'-metilguanidina (nº 2), N,N'-di-(1-naftil)-guanidina (nº 3), N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina (nº 4), N,N'-di-(adamantan-2-il)guanidina (nº 5), N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida (nº 6) e N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina. Em contraste, não houve correlação entre a inibição da captação de ^{45}Ca sinaptossómico e a inibição da componente fásica da libertação de glutamato (Figura 5).

A Figura 7 representa um gráfico que mostra a inibição da captação de Ca de sinaptossomas estimulada por potássio por N,N'-di-(adamantan-2-il)guanidina (■), N,N'-di-(1-naftil)guanidina (◆; $\text{IC}_{50} = 9,1 \mu\text{M}$, ----- $\text{IC}_{50} = 16 \mu\text{M}$), N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida (●; —·— $\text{IC}_{50} = 3,3 \mu\text{M}$) e N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina (△; — $\text{IC}_{50} = 6,6 \mu\text{M}$) contra a percentagem de captação de Ca comparada com a dos sinaptossomas de controlo. Conforme se mostra na Figura 7, as drogas causaram uma inibição da captação de Ca estimulada por potássio de uma maneira que depende da dose.

Numerosos outros compostos (a $10 \mu\text{M}$) foram testados à actividade na inibição/potenciação da captação de cálcio estimulada por potássio nos sinaptossomas. Os resultados são mostrados no Quadro II:

Quadro II

<u>Composto</u>	<u>% de Captação vs. Controle</u>
N-(α -Naftil)-N'-(1-piperidinil)guanidina	131
N-(Ciclo-hexil)-(1-piperidinil)guanidina	108
N-(α -Naftil)-N'-(4-fenilpiperidinil)guanidina	79
N,N'-Bis(indan-1-il)-guanidina	88
N,N'-Bis(m-etilfenil)-2-imino-imidazolidina	101
N,N'-Bis(o-tolil)-N,N'-butanil(ponte)-guanidina	119
N,N'-Bis(1-adamantanometil)-guanidina	111
N-(8-Aminocumarinil)-N'-(m-etilfenil)-N'-metil-guanidina	151
N,N'-Bis(1,2,3,4-tetra-hidro-1-quinollinil)guanidina	87
N,N'-Bis(5-acenaftil)-guanidina	43
N-(m-Etilfenil)-N'-(2-carboetoxi-7-benzofuranil)-N-metilguanidina	71
N-(α -Naftil)-N'-(m-etilfenil)-N"-cianoguanidina	95
N-(Adamantan-1-il)-N'-(4,5-benzo-2-tia-1,3-diazol-6-il)guanidina	98

O Quadro III mostra a percentagem de inibição da captação de ^{45}Ca sinaptossômico e libertação de glutamato (componente persistente) por certas guanidinas dissustituídas em N e N' do invento.

Quadro II

Inibição da Captação de ^{45}Ca Sinaptossômico e
 Liberação de Glutamato (Componente Persistente)
 Por Guanidinas Substituídas e Compostos Relacionados

Composto	Inibição da Captação de ^{45}Ca	
	% Inibi- ção em 10 mM (SEM)	IC50 mM
N,N'-Bis(5-acenaftil)guanidina	63 (± 3)	7,5
N-(Adamantan-1-il)-N'-(α -naftil) guanidina	31 (± 14)	-
N-(5-Acenaftil)-N'-(4- isopropilfenil)guanidina	68 (± 7)	-
N-(Adamantan-1-il)-N'-(adamantan-2- -il)guanidina	49 (± 8)	-
N,N'-Bis(p-tert-butilfenil)guanidina	47 (± 7)	-
N-(5-Acenaftil)-N'-(4- fluoronaftil)guanidina	47 (± 4)	-
N-(5-Acenaftil)-N'-(4- hidroxinaftil)guanidina	35 (± 7)	-
N-(5-Acenaftil)-N'-(4- metoxinaftil)guanidina	56 (± 3)	-
N-(Adamantan-2-il)-N'-(5- acenaftil)guanidina	69 (± 3)	4,8
N,N'-Bis(3-acenaftil)guanidina	36 (± 14)	11

N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil-hidra-zinodicarboximidamida	74 (±6)	3
N,N'-Di-(adamantan-2-il)guanidina	35 (±12)	16,1 ± 10
N,N'-Bis(1-naftil)guanidina	27 (±5)	23,6 ± 10
N,N'-Di-(4-isopropilfenil)guanidina	48 (±14)	19 ± 7
N-(5-Acenaftil)-N'-(adamantan-1-il)-guanidina	47 (±11)	9,7 ± 3
N-(5-Acenaftil)-N'-(1-naftil)-guanidina	40 (±6)	16,2 ± 0,4
N,N'-Di-(adamantan-1-il)guanidina	25 (±11)	25 ± 9

Exemplo 6

Inibição da Liberação de Glutamato de Sinaptossomas Despolarizados com Veratridina

A seguir, o efeito de várias concentrações de N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina sobre a liberação de Ca^{2+} de sinaptossomas despolarizados com veratridina foi avaliado. Conforme se mostra na Figura 6, o aumento das concentrações de N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina causou uma inibição da liberação de glutamato de uma maneira que depende da dose.

Exemplo 7Efeito de N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina Sobre Correntes de Sódio em Células do Neuroblastoma

A totalidade das correntes de sódio celulares foi eliciada em células do neuroblastoma N1E-115 unidas por voltagem, utilizando o protocolo de estímulo mostrado no cimo da Figura 8. A ejeção à pressão de N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina 30 μ M nestas células (N = 5) bloqueou as correntes de sódio interiores por uma média de 40 % (49 % de inibição nas células, resultados que são representados na Figura 8). Os efeitos desta droga foram parcialmente invertidos a seguir à lavagem.

Exemplo 8Monitorização da Dependência do Uso com o Sistema de Superfusão

Sinaptossomas carregados com ^3H -glutamato foram lavados durante 10 segundos para fazer sair a radioactividade exterior e a superfusão foi iniciada. A superfusão consistiu de 2 segundos de fluxo de tampão de baixo K^+ (3 mM) seguido por fluxo de tampão de alto K^+ (55 mM). Isto foi repetido por mais três vezes seguido por 2 segundos de tampão de baixo K^+ . Os resultados são mostrados nas Figuras 9 e 10. A libertação de glutamato independente de Ca e dependente de Ca nos últimos pulsos foi expressa como percentagem dos seus fluxos iniciais. As Figuras 9 e 10 mostram que a libertação de glutamato independente de Ca é convenientemente constante enquanto a recuperação dependente de Ca decai e requer tempo para recuperar.

Exemplo 9

Estudos de Electrofisiologia em Canais de Tipo N

Células do gânglio da raiz dorsal da rã "American bullfrog" isoladas, que expressam canais de cálcio do tipo N sensíveis a ômega-conotoxina, foram tratadas com 5 μ M de N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina. A solução também continha CsCl 90 mM; fosfato de creatina 5 mM; MgATP 5 mM; tris-GTP 0,3 mM; EGTA 10 mM; HEPES 10 mM; pH = 7,2. Como se mostra na Figura 11, este composto inibiu cerca de 40 % da corrente. A 20 μ M, este composto inibiu quase toda a corrente (não mostrado). A maior parte da inibição foi invertida em cerca de 6 minutos (não mostrado). O canal de cálcio reduzido durante o período de registo pode responder pela falta de inversão completa de inibição.

Exemplo 10

Estudos de Electrofisiologia na Transmissão Sináptica Excitadora

Secções transversais de hipocampo foram obtidas a partir de ratas Sprague-Dawley de 4-6 semanas de idade e mantidas sob condições padrão. Como se mostra na Figura 12, os potenciais sinápticos foram eliciados por aplicação de estímulos eléctricos de corrente constante fornecidos através de eléctrodos concêntricos bipolares de platina/irídio colocados no "stratum radiatum" para assegurar a completa estimulação dos colaterais de Schaffer. Os potenciais excitadores pós-sinápticos extracelulares (EPSP's) foram registados colocando um microeléctrodo de vidro cheio de salina quer no "stratum radiatum" quer no "stratum lacunosum". As variações transientes da corrente foram registadas colocando um eléctrodo no "stratum pyramidale".

Como se mostra na Figura 13A, a aplicação de um banho de N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina eliminou completamente as variações transientes da corrente. Este efeito é completamente reversível a seguir a lavagem. O EPSP de campo ascendente foi também reversivelmente bloqueado por perfusão em banho da droga.

Como se mostra na Figura 13B, a aplicação de um banho de N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina eliminou quase completamente o EPSP de campo. Este efeito é completamente reversível a seguir a lavagem. Pequenas populações de variações transientes da corrente são também sobrepostos com evidência na última fase de EPSP. A perfusão do banho deste composto também bloqueou reversivelmente estas populações de variações transientes da corrente.

A Figura 13C representa o efeito de N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina 20 μ M sobre a amplitude da resposta a um estímulo eléctrico. A amplitude do EPSP foi reduzido entre 80-90 % e a resposta foi completamente recuperada a seguir a lavagem.

A Figura 14 representa dois gráficos que mostram o efeito de adenosina 1 mM (um bloqueador de libertação de transmissor pré-sináptico conhecido) sobre a amplitude do EPSP em lâminas do hipocampo. A Figura 14A mostra que a aplicação do banho de adenosina eliminou quase completamente os EPSP's de campo de um modo completamente reversível. Houve uma resposta excessiva momentânea a seguir à recuperação. As populações de variações transientes da corrente durante a última fase do EPSP foram totalmente bloqueadas pela adenosina mas não pareceram retornar a seguir à recuperação. A presença e duração da descarga pré-sináptica não foi afectada pela adenosina; contudo, pareceu haver uma pequena mudança reversível na amplitude. Ainda que a libertação do neurotransmissor possa ser bloqueada, não existe efeito mensurável sobre a descarga aferente. Em

aditamento, este paradigma experimental não pode distinguir entre reduções pré-sinápticamente ou pós-sinápticamente mediadas de potenciais sinápticos medidos extracelularmente.

A Figura 14B mostra o efeito de adenosina 1 mM sobre a amplitude do EPSP normalizado (medida da amplitude do EPSP dividida pela amplitude do EPSP máximo em milivolts) ao longo do tempo. A aplicação do banho de adenosina causou uma redução de 90 % na amplitude do EPSP de campo (primeira resposta ao estímulo emparelhado aqui mostrado). Este efeito é completamente reversível a seguir a lavagem com alguma resposta excessiva momentânea evidente nesta lâmina.

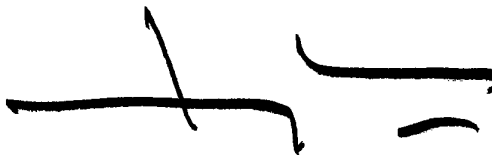
Os resultados dos registros da lâmina de hipocampo conduziram às seguintes conclusões. A aplicação do banho de N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina (20 μ M) reduziu substancialmente e reversivelmente a amplitude não só dos EPSP's de campo mas também as populações de variações transientes da corrente por 80-90 %. Os efeitos deste composto foram completamente reversíveis. Os efeitos deste composto assemelham-se qualitativamente às ações da adenosina, um agonista dos receptores de adenosina pré-sinápticos que é conhecido por bloquear a libertação de glutamato.

Os exemplos precedentes podem ser repetidos com sucesso semelhante substituindo os reagentes e/ou condições de operação generica ou especificamente descritos deste invento pelos utilizados nos exemplos precedentes.

A partir da memória descritiva antecedente, um perito na técnica pode facilmente apurar as características essenciais

deste invento e, sem se afastar do seu espírito, âmbito e alcance, pode fazer várias trocas e modificações do invento para adaptá-lo a várias utilizações e condições.

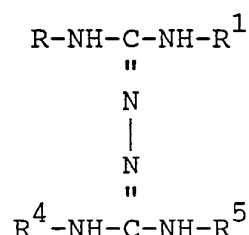
Lisboa, 10 de Fevereiro de 1992



J. PEREIRA DA CRUZ
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 10-A 3.º
1200 LISBOA

REIVINDICAÇÕES

1ª. - Composto que tem a fórmula:

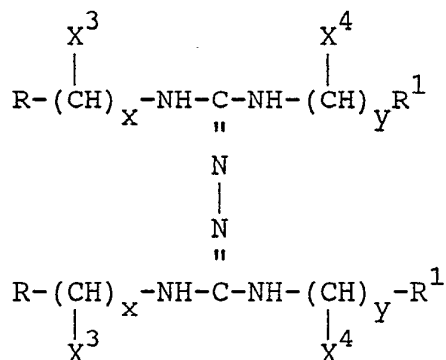


ou um seu tautômero,
em que R, R¹, R⁴ e R⁵ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-dietilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo, ou imidazolilo;

em que R, R¹, R⁴ ou R⁵ representa hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido; caracterizado por ser utilizado para a modulação da libertação de neurotransmissores endógenos num animal.

2ª. - Composto de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetrafenil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(adamantan-1-il)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(adamantan-1-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(adamantan-1-il)-N'',N'''-di-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(adamantan-1-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(acenaft-5-il)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-diciclo-hexil-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida ou N,N'-diciclo-hexil-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida.

3ª. - Composto que tem a fórmula:



ou um seu tautômero,

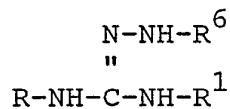
em que R e R¹ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-di-etilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo; ou imidazolilo;

X³ e X⁴ são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogênio, hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₁₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrílo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido;

em que R e R¹ são facultativamente substituídos por hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₁₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido;

x e y são iguais ou diferentes e representam 0, 1, 2, 3 ou 4; caracterizado por ser utilizado para a modulação da libertação de neurotransmissores endógenos num animal.

4^a. - Composto que tem a fórmula:



ou um seu tautómero,

em que R e R¹ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-dietilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo,

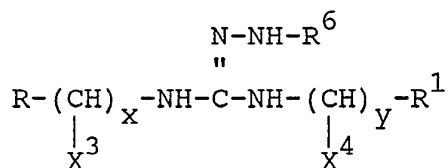
pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo ou imidazolilo;

em que R e R¹ são facultativamente substituídos por hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido;

R⁶ representa hidrogénio, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo carbocíclico, nitrilo, alcoxi(C₁₋₆)carbonilo, benzoílo ou acilo C₁₋₆;

caracterizado por ser utilizado para a modulação da libertação de neurotransmissores endógenos num animal.

5ª. - Composto que tem a fórmula:



ou um seu tautómero,

em que R e R¹ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-di-etilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo,

2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrólilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo ou imidazolilo;

X^3 e X^4 são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, hidroxí, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido;

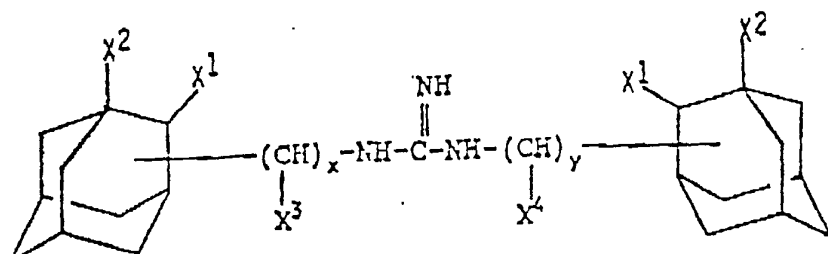
em que R e R^1 são facultativamente substituídos por hidroxí, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido;

x e y são iguais ou diferentes e representam 0, 1, 2, 3 ou 4;

R^6 representa hidrogénio, alquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-12} , arilo carbocíclico, nitrilo, alcoxi(C_{1-6})carbonilo, acilo C_{1-6} ou benzoílo;

caracterizado por ser utilizado para a modulação da libertação de neurotransmissores endógenos num animal.

6ª. - Composto que tem a fórmula:

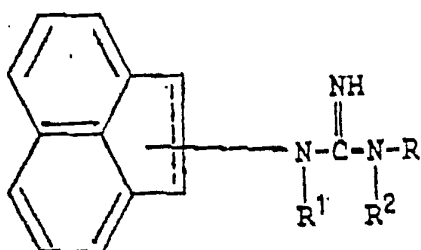


em que X^1 , X^2 , X^3 e X^4 são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, hidroxí, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrílo, ciano, isocianato, halogénio, amido, sulfonato ou carbamido; em que pelo menos um de entre X^1 , X^2 , X^3 e X^4 é diferente de hidrogénio;

x e y são iguais ou diferentes e representam 0, 1, 2, 3 ou 4; caracterizado por ser utilizado para a modulação da libertação de neurotransmissores endógenos num animal.

7ª. - Composto que é N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina, N,N'-di-(adamantan-2-il)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(2-iodofenil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(2-metilfenil)guanidina, N,N'-di-(1-naftil)guanidina, N-(3-etilfenil)-N'-(1-naftil)guanidina ou N-(1-naftil)-N'-(m-etilfenil)-N'-metilguanidina; caracterizado por ser utilizado para a modulação da libertação de neurotransmissores endógenos em excesso num animal.

8ª. - Composto que é uma guanidina substituída por acenaftilo que tem a fórmula:



em que R representa cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo-

ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclo-pentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-dietilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo, ou imidazolilo; R^1 e R^2 são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)amino, arilo ou arilo C_{5-10} substituído; em que R e o grupo acenaftilo são facultativamente substituídos por hidroxil, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)-amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogénio, amido, sulfonato ou carbamido; caracterizado por ser utilizado para a modulação da libertação de neurotransmissores endógenos em excesso num animal.

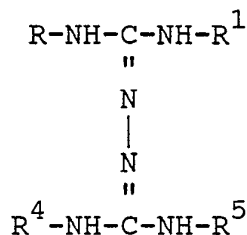
9ª. Composto de acordo com a reivindicação 8, caracterizado por ser escolhido do grupo constituído por N,N'-di-(1-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(3-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(acenaftilen-1-il)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(5-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N-(5-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N-(3-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N'-(3-acenaftil)guanidina,

N-(adamantan-1-il)-N'-(adamantan-2-il)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-hidroxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-hidroxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-metoxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-metoxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-nitronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-nitronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-aminonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-aminonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-azidonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-azidonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-bromonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-bromonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-cianonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-cianonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-amidonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-amidonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-iodonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-iodonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(7-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(7-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-metoxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-metoxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-hidroxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-hidroxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-aminonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-aminonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-isopropilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-isopropilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-n-propilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-n-propilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-isopropilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-isopropilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-ciclopropilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-ciclopropilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(cumarinil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(cumarinil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(quinolinil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(quinolinil)guanidina, N-(4-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,

N-(4-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-nitro-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-nitro-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-amino-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-amino-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-amino-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-amino-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-metoxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-metoxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-metoxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-metoxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, _

10ª. - Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado por ser administrado como parte de uma composição farmacêutica que compreende um agente de suporte farmacêuticamente aceitável.

11ª. - Composto que tem a fórmula:



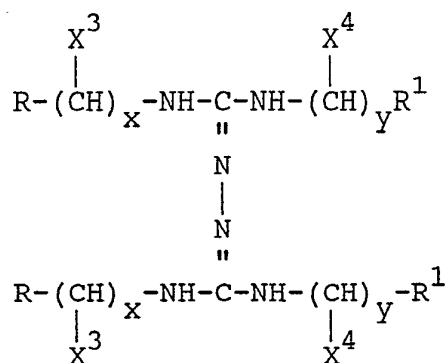
ou um seu tautômero,

em que R, R¹, R⁴ e R⁵ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-dietilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo, ou imidazolilo;

em que R, R¹, R⁴ ou R⁵ representa hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido; caracterizado por ser utilizado para a inibição da libertação de neurotransmissores endógenos num animal.

12ª. - Composto de acordo com a reivindicação 11, caracterizado por ser N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetrafenil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(adamantan-1-il)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(adamantan-1-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(adamantan-1-il)-N'',N'''-di-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(adamantan-1-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(acenaft-5-il)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-diciclo-hexil-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida ou N,N'-diciclo-hexil-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida.

13ª. - Composto que tem a fórmula:



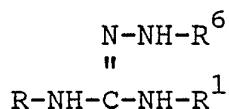
ou um seu tautômero,
em que R e R¹ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-di-etilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo; ou imidazolilo;

X³ e X⁴ são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogénio, amido, sulfonato ou carbamido;

em que R e R¹ são facultativamente substituídos por hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogénio, amido, sulfonato ou carbamido;

x e y são iguais ou diferentes e representam 0, 1, 2, 3 ou 4; caracterizado por ser utilizado para a inibição da libertação de neurotransmissores endógenos num animal.

14ª. Composto que tem a fórmula:



ou um seu tautômero,

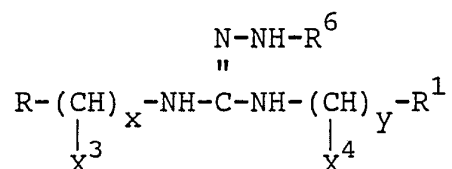
em que R e R¹ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-di-etilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo ou imidazolilo;

em que R e R¹ são facultativamente substituídos por hidroxil, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido;

R⁶ representa hidrogénio, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo carbocíclico, nitrilo, alcoxi(C₁₋₆)carbonilo, benzoílo ou acilo C₁₋₆;

caracterizado por ser utilizado para a inibição da libertação de neurotransmissores endógenos num animal.

15ª. - Composto que tem a fórmula:



ou um seu tautómero,

em que R e R¹ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-di-etilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo ou imidazolilo;

X³ e X⁴ são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de

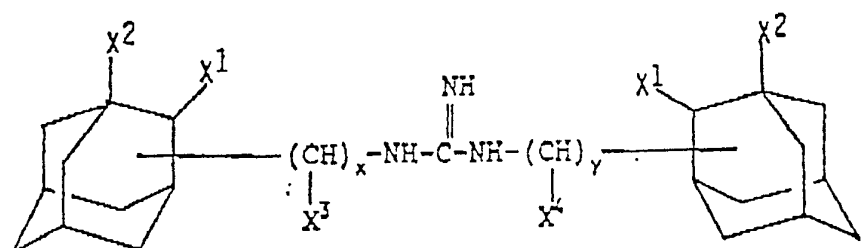
carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido; em que R e R¹ são facultativamente substituídos por hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido;

x e y são iguais ou diferentes e representam 0, 1, 2, 3 ou 4;

R⁶ representa hidrogénio, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo carbocíclico, nitrilo, alcoxi(C₁₋₆)carbonilo, acilo C₁₋₆ ou benzoílo;

caracterizado por ser utilizado para a inibição da libertação de neurotransmissores endógenos num animal.

16^a. - Composto que tem a fórmula:



em que X¹, X², X³ e X⁴ são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido; em que pelo menos um de entre X¹, X², X³ e X⁴ é diferente de hidrogénio;

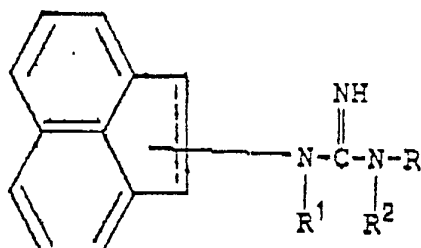
x e y são iguais ou diferentes e representam 0, 1, 2, 3 ou 4;

caracterizado por ser utilizado para a inibição da libertação de neurotransmissores endógenos num animal.

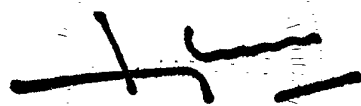
17ª. - Composto que é a N,N'-di-(adamantan-1-il)guanidina, N,N'-di-(adamantan-2-il)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(2-iodofenil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(2-metilfenil)guanidina, N,N'-di-(1-naftil)guanidina, N-(3-etilfenil)-N'-(1-naftil)guanidina ou N-(1-naftil)-N'-(m-etilfenil)-N'-metilguanidina;

caracterizado por ser utilizado para a inibição da libertação de neurotransmissores endógenos em excesso num animal.

18ª. - Composto que é uma guanidina substituída por acenaftilo que tem a fórmula:



em que R representa cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2-



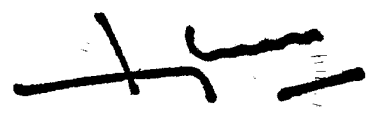
ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-dietilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo, ou imidazolilo;

R^1 e R^2 são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)amino, arilo ou arilo C_{5-10} substituído;

em que R e o grupo acenaftilo são facultativamente substituídos por hidroxil, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)-amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogénio, amido, sulfonato ou carbamido:

caracterizado por ser utilizado para a inibição da libertação de neurotransmissores endógenos em excesso num animal.

19ª. - Composto de acordo com a reivindicação 18, caracterizado por ser escolhido do grupo constituído por N,N'-di-(1-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(3-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(acenaftilen-1-il)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(5-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N-(5-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N-(3-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N'-(3-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(adamantan-2-il)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-hidroxi-naftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-hidroxi-naftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-metoxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-metoxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-nitronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-nitronaftil)guanidina,



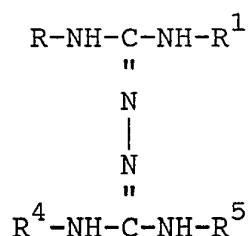
N-(3-acenaftil)-N'-(4-aminonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-aminonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-azidonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-azidonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-bromonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-bromonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N-(4-cianonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N-(4-cianonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-amidonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-amidonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-iodonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-iodonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(7-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(7-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-metoxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-metoxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-hidroxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-hidroxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-aminonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-aminonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-isopropilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-isopropilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-n-propilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-n-propilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N-(2-isopropilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N-(2-isopropilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N-(4-ciclopropilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N-(4-ciclopropilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(cumarinil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(cumarinil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(quinolinil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(quinolinil)guanidina, N-(4-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-nitro-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-nitro-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-amino-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-amino-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-amino-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,

~~_____~~
 N-(4-amino-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-metoxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-metoxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-metoxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-metoxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(3-acenaftilenil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(3-acenaftilenil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(5-acenaftilenil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(5-acenaftilenil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N,N'-bis(4-bromo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-bromo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-hidroxi-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-hidroxi-5-acenaftil)guanidina,

N,N'-bis(4-amino-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-amino-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-nitro-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-nitro-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-bromo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-bromo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-bromo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-bromo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-hidroxi-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-hidroxi-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-hidroxi-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-hidroxi-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-oxo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-oxo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-oxo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-oxo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(3-acenaftilenil)guanidina e N,N'-bis(5-acenaftilenil)guanidina.

20ª. - Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 11 a 19, caracterizado por ser administrado como parte de uma composição farmacêutica que compreende um agente de suporte farmacêuticamente aceitável.

21ª. - Composto que tem a fórmula:



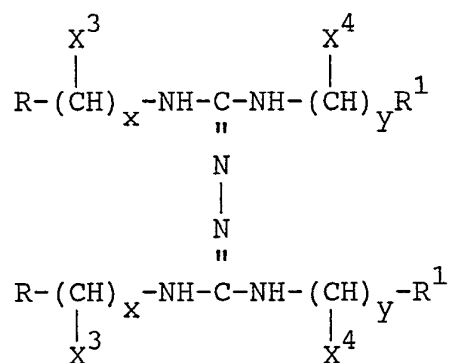
ou um seu tautômero,
em que R, R¹, R⁴ e R⁵ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou

3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-dietilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, pirídilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo, ou imidazolilo; em que R, R¹, R⁴ ou R⁵ representa hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido; caracterizado por ser utilizado para o tratamento ou prevenção de uma doença do sistema nervoso em que a patofisiologia da desordem envolve a libertação excessiva de um neurotransmissor das células neuronais num mamífero.

22ª. - Composto de acordo com a reivindicação 21, caracterizado por ser N,N',N'',N'''-tetraciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetrafenil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(adamantan-1-il)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(adamantan-1-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(adamantan-1-il)-N'',N'''-di-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-diciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-

-di-(adamantan-1-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(acenaft-5-il)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-diciclo-hexil-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida ou N,N'-diciclo-hexil-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida.

23ª. - Composto que tem a fórmula:



ou um seu tautômero,
em que R e R¹ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis

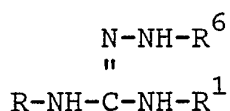
separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num anel, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-di-etilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo; ou imidazolilo;

X^3 e X^4 são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, hidroxil, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogénio, amido, sulfonato ou carbamido;

em que R e R^1 são facultativamente substituídos por hidroxil, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogénio, amido, sulfonato ou carbamido;

x e y são iguais ou diferentes e representam 0, 1, 2, 3 ou 4; caracterizado por ser utilizado para o tratamento ou prevenção de uma doença do sistema nervoso em que a patofisiologia da desordem envolve a libertação excessiva de um neurotransmissor das células neuronais num mamífero.

24ª. - Composto que tem a fórmula:



ou um seu tautómero,

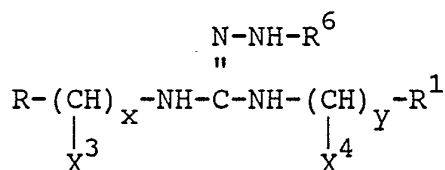
em que R e R¹ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-dietilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo ou imidazolilo;

em que R e R¹ são facultativamente substituídos por hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido;

R⁶ representa hidrogénio, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo carbocíclico, nitrilo, alcoxi(C₁₋₆)carbonilo, benzoílo ou acilo C₁₋₆;

caracterizado por ser utilizado para o tratamento ou prevenção de uma doença do sistema nervoso em que a patofisiologia da desordem envolve a libertação excessiva de um neurotransmissor das células neuronais num mamífero.

25^a. - Composto que tem a fórmula:



ou um seu tautômero,

em que R e R¹ são iguais ou diferentes e representam cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclopentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-di-etilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo ou imidazolilo;

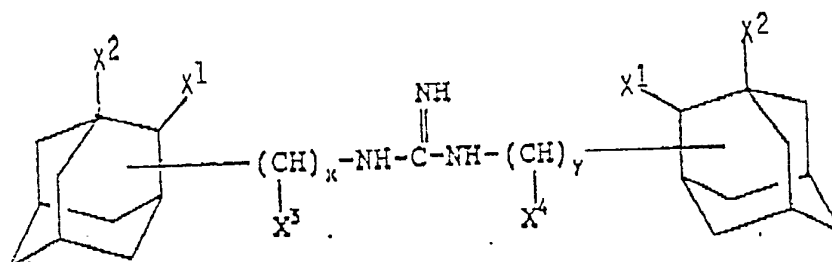
R⁶ representa hidrogénio, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₁₂, arilo carbocíclico, nitrilo, alcoxi(C₁₋₆)carbonilo, acilo C₁₋₆ ou benzoílo;

X³ e X⁴ são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, hidroxí, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido;

em que R e R^1 são facultativamente substituídos por hidroxí, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido;

x e y são iguais ou diferentes e representam 0, 1, 2, 3 ou 4; caracterizado por ser utilizado para o tratamento ou prevenção de uma doença do sistema nervoso em que a patofisiologia da desordem envolve a libertação excessiva de um neurotransmissor das células neuronais num mamífero.

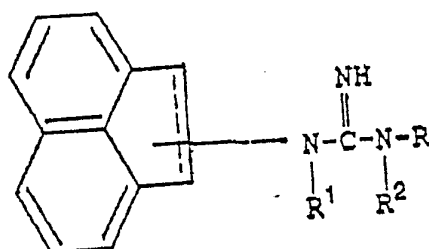
26ª. - Composto que tem a fórmula:



em que X^1 , X^2 , X^3 e X^4 são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, hidroxí, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido; em que pelo menos um de entre X^1 , X^2 , X^3 e X^4 é diferente de hidrogénio;

x e y são iguais ou diferentes e representam 0, 1, 2, 3 ou 4; caracterizado por ser utilizado para o tratamento ou prevenção de uma doença do sistema nervoso em que a patofisiologia da desordem envolve a libertação excessiva de um neurotransmissor das células neuronais num mamífero.

27ª. - Composto que é uma guanidina substituída por acenaftilo que tem a fórmula:



em que R representa cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclo-pentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-dietilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo, ou imidazolilo; R¹ e R² são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, arilo ou arilo C₅₋₁₀ substituído;

em que R e o grupo acenaftilo são facultativamente substituídos por hidroxil, amino, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)-amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C₂₋₁₂ inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogênio, amido, sulfonato ou carbamido;

caracterizado por ser utilizado para o tratamento ou prevenção de uma doença do sistema nervoso em que a patofisiologia da desordem envolve a libertação excessiva de um neurotransmissor das células neuronais num mamífero.

28ª. - Composto de acordo com a reivindicação 27, caracterizado por ser escolhido do grupo constituído por N,N'-di-(1-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(3-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(acenaftilen-1-il)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(5-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N-(5-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N-(3-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N'-(3-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(adamantan-2-il)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-hidroxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-hidroxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-metoxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-metoxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-nitronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-nitronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-aminonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-aminonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-azidonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-azidonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-bromonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-bromonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N-(4-cianonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N-(4-cianonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-amidonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-amidonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-iodonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-iodonaftil)guanidina,

~~_____~~
 N-(3-acenaftil)-N'-(7-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-
 -N'-(7-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-fluoronaftil)
 guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-fluoronaftil)guanidina,
 N-(3-acenaftil)-N'-(2-metoxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-
 -N'-(2-metoxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-hidroxinaftil)
 guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-hidroxinaftil)guanidina,
 N-(3-acenaftil)-N'-(2-aminonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-
 -(2-aminonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-isopropilfe-
 nil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-isopropilfenil)guanidina,
 N-(3-acenaftil)-N'-(4-n-propilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-
 -N'-(4-n-propilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N-(2-isopropil-
 fenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N-(2-isopropilfenil)guanidina,
 N-(3-acenaftil)-N-(4-ciclopropilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-
 -N-(4-ciclopropilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(cuma-
 rinil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(cumarinil)guanidina,
 N-(3-acenaftil)-N'-(quinolinil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-
 -(quinolinil)guanidina, N-(4-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-
 -il)guanidina, N-(4-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guani-
 dina, N-(4-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,
 N-(4-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-ni-
 tro-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-nitro-5-ace-
 naftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-amino-3-acenaftil)-N'-
 -(adamant-1-il)guanidina, N-(4-amino-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-
 -il)guanidina, N-(4-amino-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidi-
 na, N-(4-amino-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-
 -metoxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-metoxi-3-
 -acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-metoxi-5-acenaftil)-
 -N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-metoxi-5-acenaftil)-N'-
 -(adamant-2-il)guanidina, N-(4-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-
 -il)guanidina, N-(4-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guani-
 dina, N-(4-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,
 N-(4-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-oxo-3-
 -acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,

N-(1-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(3-acenaftilenil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(3-acenaftilenil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(5-acenaftilenil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(5-acenaftilenil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N,N'-bis(4-bromo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-bromo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-hidroxi-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-hidroxi-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-amino-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-amino-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-nitro-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-nitro-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-bromo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-bromo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-bromo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-bromo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-hidroxi-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-hidroxi-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-hidroxi-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-hidroxi-5-acenaftil)guanidina,

N,N'-bis(1-oxo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-oxo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-oxo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-oxo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(3-acenaftilenil)guanidina e N,N'-bis(5-acenaftilenil)guanidina.

29ª. - Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 28, caracterizado por ser administrado como parte de uma composição farmacêutica que compreende um agente de suporte farmacêuticamente aceitável.

30ª. - Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 28, caracterizado por a referida desordem ser uma doença neurodegenerativa escolhida do grupo constituído pela doença de Huntington, Esclerose Lateral Amiotrófica, doença de Alzheimer, Síndrome de Down, doença de Korsakoff, atrofia olivopontocerebelar, demência induzida pelo VIH (ou HIV), cegueira induzida pelo VIH ou demência de enfarte múltiplo.

31ª. - Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 28, caracterizado por a referida desordem ser a náusea que pode resultar de quimioterapia, epilepsia, convulsões, envenenamento por monóxido de carbono, envenenamento por cianeto, dano cerebral tóxico provocado por tetrodotoxina ou toxinas de mariscos, amnésia, enxaqueca ou oncocercíase.

32ª. - Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 28, caracterizado por a referida desordem ser um resultado da morte de células nervosas que resulta de hipoxia, hipoglicemia, isquemia cerebral ou da medula espinal, trauma cerebral ou da medula espinal, apoplexia, ataque cardíaco ou afogamento.

33ª. - Ensaio de rastreio para compostos que inibem a libertação de um neurotransmissor das células neuronais, caracterizado por compreender:

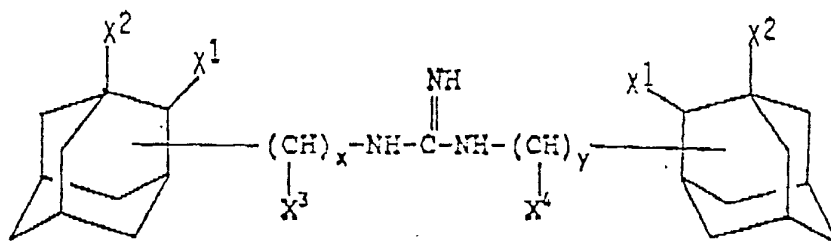
- (a) o contacto de sinaptossomas imobilizados que contêm neurotransmissor marcado radioactivamente com um composto suspeito de inibir a libertação do neurotransmissor;
- (b) a indução da libertação do neurotransmissor marcado radioactivamente dos sinaptossomas imobilizados marcados radioactivamente obtidos no passo (a);
- (c) a lavagem dos sinaptossomas imobilizados marcados radioactivamente obtidos no passo (b) com um tampão que compreende o referido composto e o fraccionamento do efluente cada 15 a 500 ms; e
- (d) a detecção da quantidade relativa de neurotransmissor marcado radioactivamente em cada fracção por comparação com sinaptossomas de controlo que não foram expostos ao composto;

em que uma quantidade reduzida de neurotransmissor marcado radioactivamente nas fracções dos sinaptossomas tratados com o composto relativa aos sinaptossomas de controlo indica que o composto inibe a libertação do neurotransmissor.

34ª. - Composto, caracterizado por ser escolhido do grupo constituído por N,N'-di-(adamantan-1-il)-N",N'''-díciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N",N'''-tetra-(adamantan-1-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N",N'''-tetra-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(adamantan-1-il)-N",N'''-di-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N",N'''-díciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N",N'''-díciclo-hexil-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N",N'''-di-(adamantan-1-il)-hidrazinodicarboximidamida,

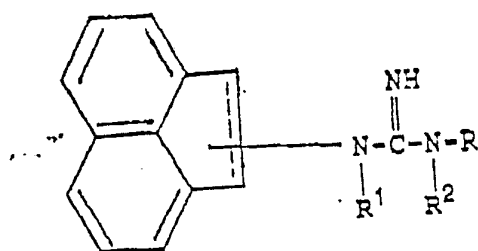
N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(adamantan-2-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N',N'',N'''-tetra-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(acenaft-5-il)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-norbornil)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-di-(2-isobornil)-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida, N,N'-diciclo-hexil-N'',N'''-di-(acenaft-5-il)-hidrazinodicarboximidamida e N,N'-diciclo-hexil-N'',N'''-di-(acenaftilen-5-il)-hidrazinodicarboximidamida.

35ª. - Composto, caracterizado por apresentar a fórmula:



em que X^1 , X^2 , X^3 e X^4 são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, hidroxí, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogénio, amido ou carbamido; em que pelo menos um de entre X^1 , X^2 , X^3 e X^4 é diferente de hidrogénio; x e y são iguais ou diferentes e representam 0, 1, 2, 3 ou 4; em que o referido composto é um inibidor eficaz da libertação de neurotransmissor de células neuronais isquémicas.

36ª. - Guanidina substituída por acenaftilo, caracterizada por apresentar a fórmula:



em que R representa cicloalquilo de 3 até 12 átomos de carbono, e.g., ciclopropilo, ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-hexenilo, ciclo-heptilo, 1,4-metilenociclo-hexilo, 1- ou 2-adamantilo, exo- ou endo-2-norbornilo, exo- ou endo-2-isobornilo, mentilo, ciclo-pentil-metilo, ciclo-hexilmetilo, 1- ou 2-ciclo-hexiletilo e 1-, 2- ou 3-ciclo-hexilpropilo; arilo, alquilarilo, aralquilo carbocíclico ou heterocíclico, e.g., de 6 até 18 átomos de carbono e que contém 1 a 3 anéis separados ou condensados, e de 0 a 5 átomos de anel de O, N e/ou S num arilo, sistema de anel alicíclico ou misto, e.g., fenilo, benzilo, 1- e 2-feniletilo, 1-, 2- ou 3-fenilpropilo; o-, m- ou p-tolilo, m,m'-dimetilfenilo, o-, m- ou p-etilfenilo, m,m'-dietilfenilo, m-metil-m'-etilfenilo e o-propilfenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, bifenilo; indanilo, por exemplo, 4-indanilo; indenilo, por exemplo, 1- ou 4-indenilo; 3-acenaftilo, 5-acenaftilo; 3-acenaftileno; 5-acenaftileno; indolilo, por exemplo, 7-indolilo; benzotiazole, quinolinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, cumarinilo, ou imidazolilo; R¹ e R² são iguais ou diferentes e são escolhidos do grupo constituído por hidrogénio, alquilo C₁₋₆ inferior, alquil(C₁₋₆ inferior)amino, arilo ou arilo C₅₋₁₀ substituído;

em que R e o grupo acenaftilo são facultativamente substituídos por hidróxi, amino, alquilo C_{1-6} inferior, alquil(C_{1-6} inferior)-amino, alcoxi de 1 a 6 átomos de carbono, dialquil(C_{2-12} inferior)amino, nitro, azido, sulfidrilo, ciano, isocianato, halogéneo, amido, sulfonato ou carbamido.

37^a. - Guanidina substituída por acenaftilo de acordo com a reivindicação 36, caracterizada por ser escolhida do grupo constituído por N,N'-di-(1-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(3-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(5-acenaftil)guanidina, N,N'-di-(acenaftilen-1-il)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(5-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N-(5-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N-(3-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-2-il)-N'-(3-acenaftil)guanidina, N-(adamantan-1-il)-N'-(adamantan-2-il)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-hidroxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-hidroxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-metoxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-metoxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-nitronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-nitronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-aminonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-aminonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-azidonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-azidonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-bromonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-bromonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N-(4-cianonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N-(4-cianonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-amidonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-amidonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-(4-iodonaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-(4-iodonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(7-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(7-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-fluoronaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-fluoronaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-metoxinaftil)guanidina,

~~SECRET~~
 N-(5-acenaftil)-N'-(2-metoxinaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-
 -N'-(2-hidroxinaftil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(2-hidroxi-
 naftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(2-aminonaftil)guanidina,
 N-(5-acenaftil)-N'-(2-aminonaftil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-
 -(4-isopropilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(4-isopropil-
 fenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(4-n-propilfenil)guanidina,
 N-(5-acenaftil)-N'-(4-n-propilfenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-
 -N-(2-isopropilfenil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N-(2-isopropil-
 fenil)guanidina, N-(3-acenaftil)-N-(4-ciclopropilfenil)guanidi-
 na, N-(5-acenaftil)-N-(4-ciclopropilfenil)guanidina, N-(3-ace-
 naftil)-N'-(cumarinil)guanidina, N-(5-acenaftil)-N'-(cumarinil)-
 guanidina, N-(3-acenaftil)-N'-(quinolinil)guanidina, N-(5-ace-
 naftil)-N'-(quinolinil)guanidina, N-(4-hidroxi-3-acenaftil)-N'-
 -(adamant-1-il)guanidina, N-(4-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-
 -2-il)guanidina, N-(4-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)gua-
 nidina, N-(4-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina,
 N-(4-nitro-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-nitro-
 -5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-amino-3-acenaftil)-
 -N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-amino-3-acenaftil)-N'-
 -(adamant-2-il)guanidina, N-(4-amino-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-
 -il)guanidina, N-(4-amino-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidi-
 na, N-(4-metoxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,
 N-(4-metoxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-meto-
 xi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(4-metoxi-5-ace-
 naftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(4-bromo-3-acenaftil)-N'-
 -(adamant-1-il)guanidina, N-(4-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-
 -il)guanidina, N-(4-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidi-
 na, N-(4-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-
 -oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-oxo-3-acenaftil)-
 -N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-oxo-5-acenaftil)-N'-(ada-
 mant-1-il)guanidina, N-(1-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)gua-
 nidina, N-(2-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,
 N-(2-oxo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina,

~~SECRET~~
 N-(2-oxo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-oxo-5-
 -acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-bromo-3-acenaftil)-
 -N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(1-bromo-3-acenaftil)-N'-(ada-
 mant-2-il)guanidina, N-(1-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-
 -il)guanidina, N-(1-bromo-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guani-
 dina, N-(2-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina,
 N-(2-bromo-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-bromo-
 -5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-bromo-5-acenaft-
 til)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(1-hidroxi-3-acenaftil)-N'-
 -(adamant-1-il)guanidina, N-(1-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-
 -2-il)guanidina, N-(1-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)gua-
 nidina, N-(1-hidroxi-5-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina,
 N-(2-hidroxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-hi-
 droxi-3-acenaftil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(2-hidroxi-5-
 -acenaftil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(2-hidroxi-5-acenaft-
 til)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N-(3-acenaftilenil)-N'-(adamant-
 -1-il)guanidina, N-(3-acenaftilenil)-N'-(adamant-2-il)guanidina,
 N-(5-acenaftilenil)-N'-(adamant-1-il)guanidina, N-(5-acenaft-
 tilenil)-N'-(adamant-2-il)guanidina, N,N'-bis(4-bromo-3-ace-
 naftil)guanidina, N,N'-bis(4-bromo-5-acenaftil)guanidina,
 N,N'-bis(4-hidroxi-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-hidroxi-
 -5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-amino-3-acenaftil)guanidina,
 N,N'-bis(4-amino-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-nitro-3-
 -acenaftil)guanidina, N,N'-bis(4-nitro-5-acenaftil)guanidina,
 N,N'-bis(1-bromo-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-bromo-5-
 -acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-bromo-3-acenaftil)guanidina,
 N,N'-bis(2-bromo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-hidroxi-
 -3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-hidroxi-5-acenaftil)guani-
 dina, N,N'-bis(2-hidroxi-3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-
 -hidroxi-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(1-oxo-3-acenaftil)gua-
 nidina, N,N'-bis(1-oxo-5-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-oxo-
 -3-acenaftil)guanidina, N,N'-bis(2-oxo-5-acenaftil)guanidina,

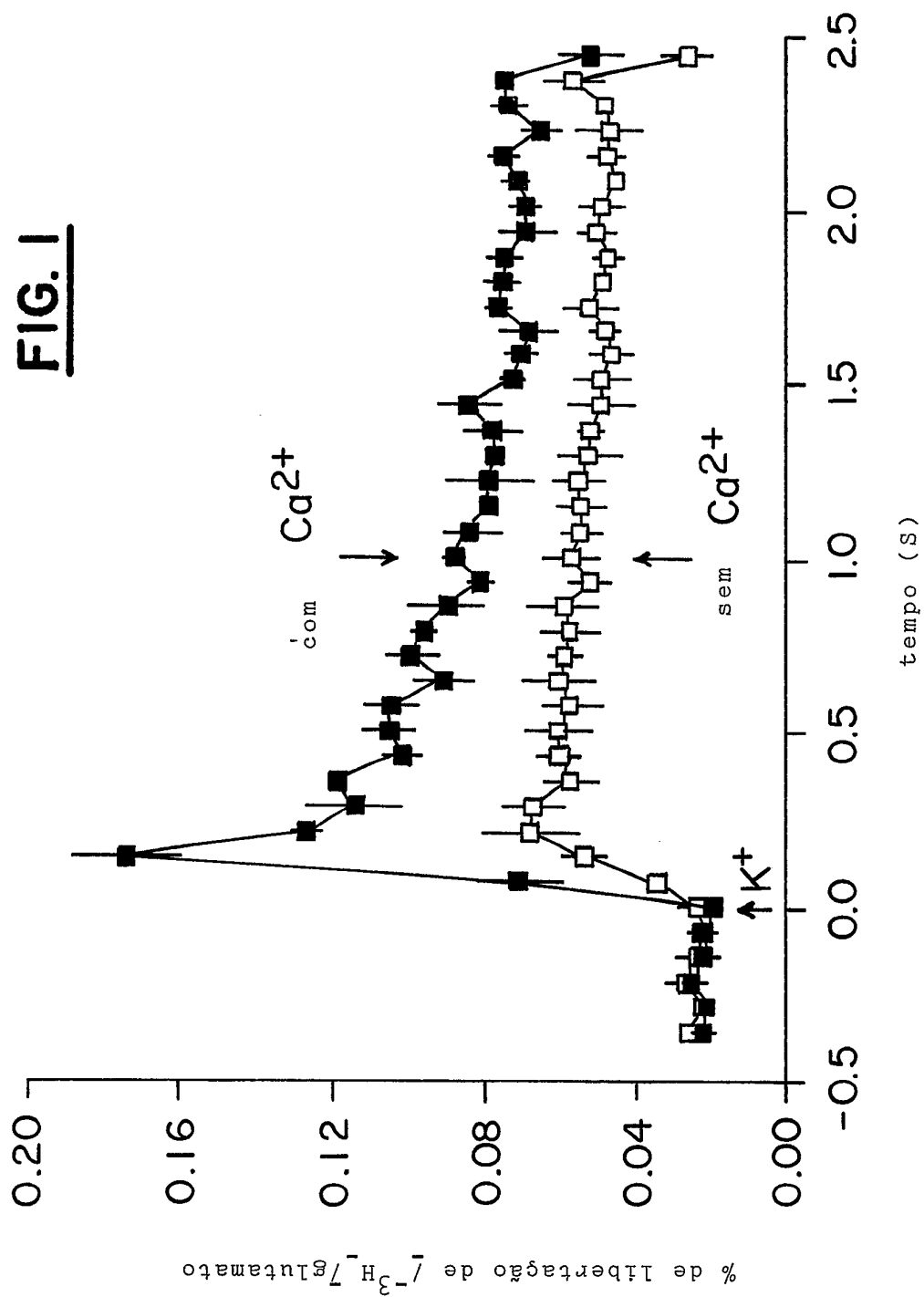
N,N'-bis(3-acenaftilenil)guanidina e N,N'-bis(5-acenaftilenil)-guanidina.

38ª. Composição farmacêutica, caracterizada por compreender o composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 34 a 37 e um agente de suporte farmacêuticamente aceitável.

Lisboa, 10 de Fevereiro de 1992



J. PEREIRA DA CRUZ
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 10 - A 3.ª
1200 LISBOA



11

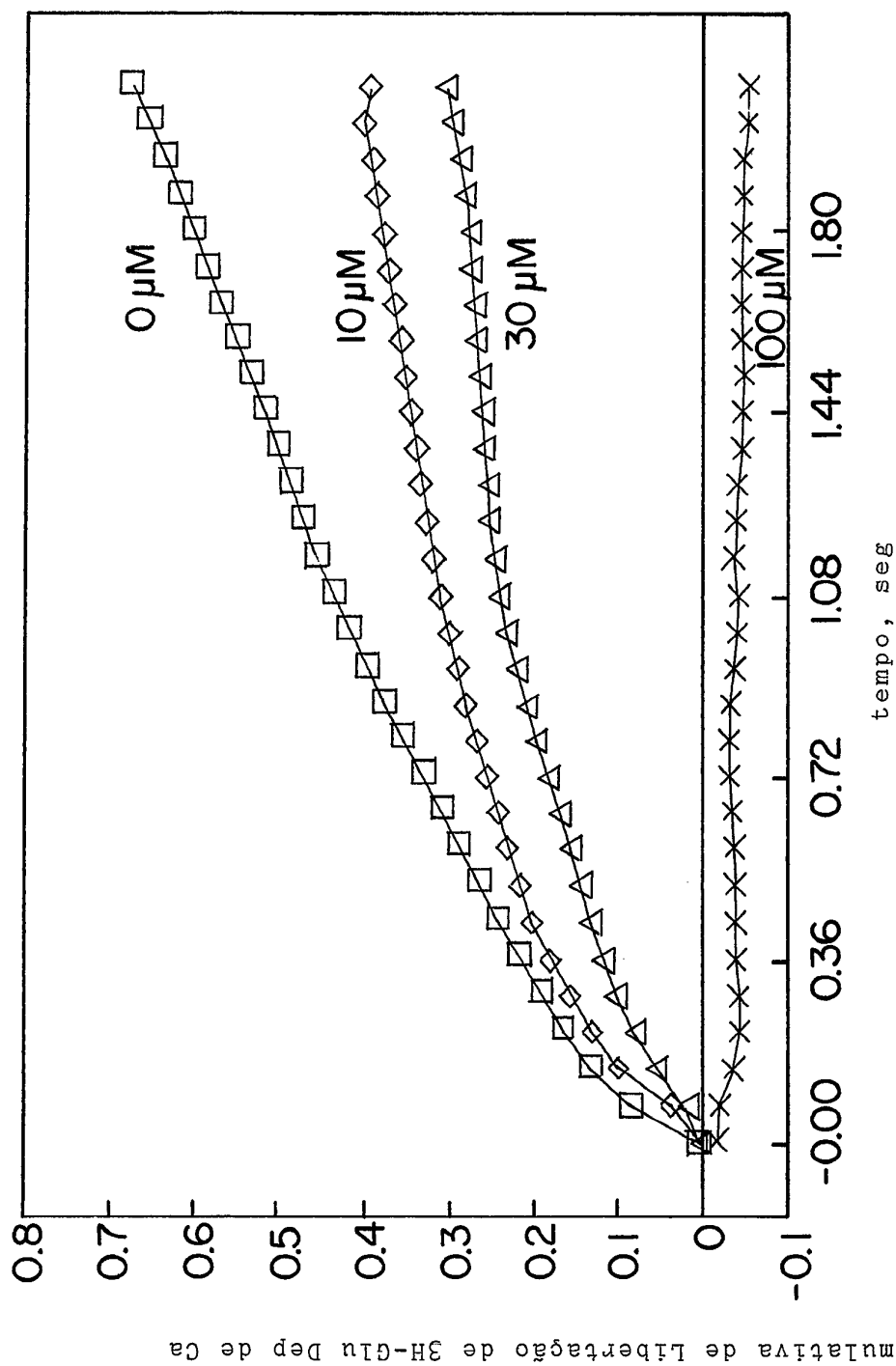
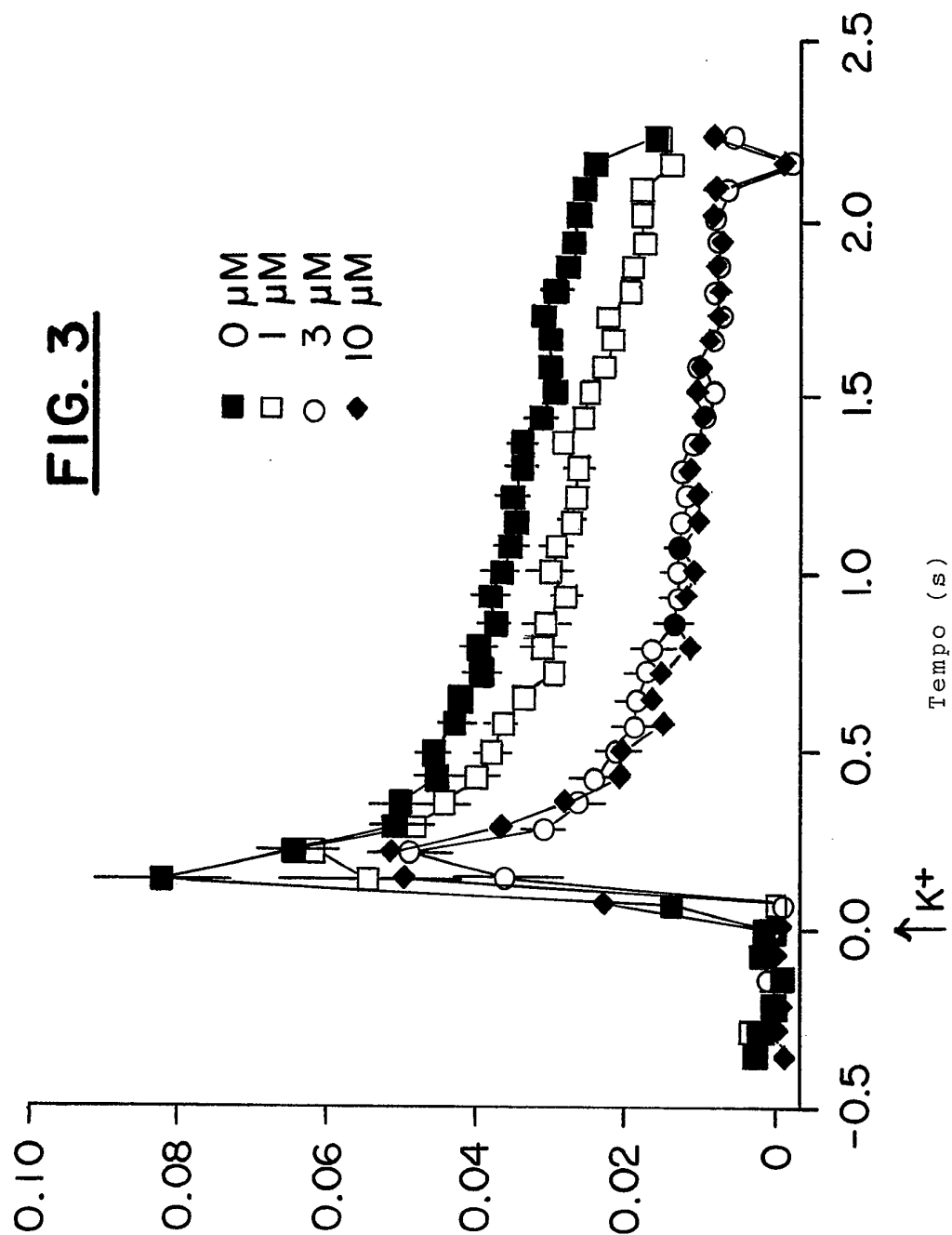
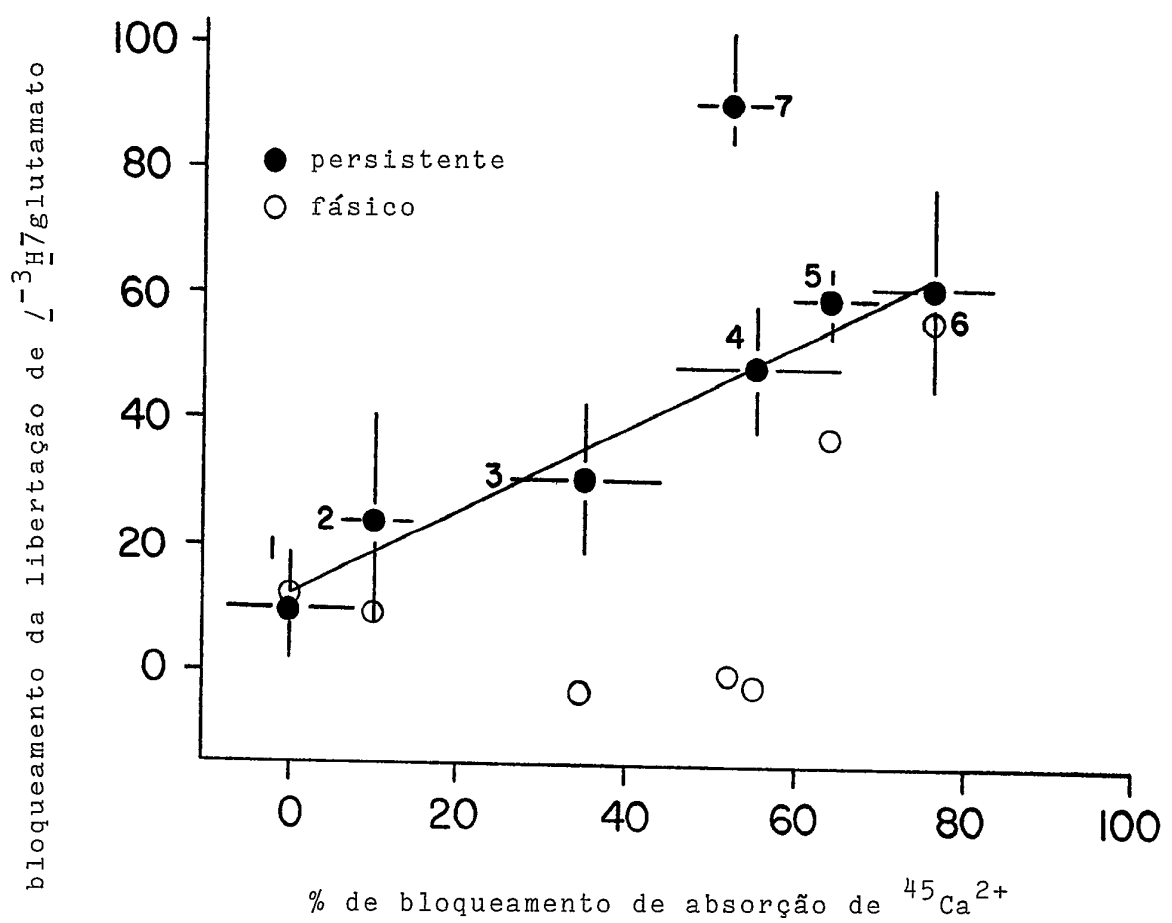


FIG. 2



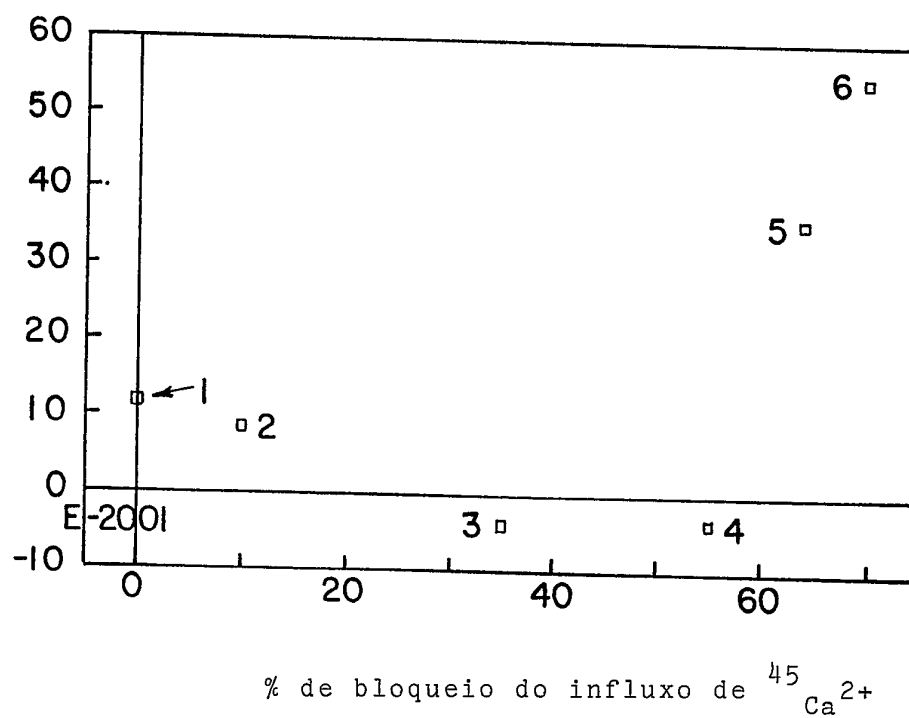
% libertação de 3H -glutamato dependente de Ca^{2+}

FIG. 4

[Handwritten signature]

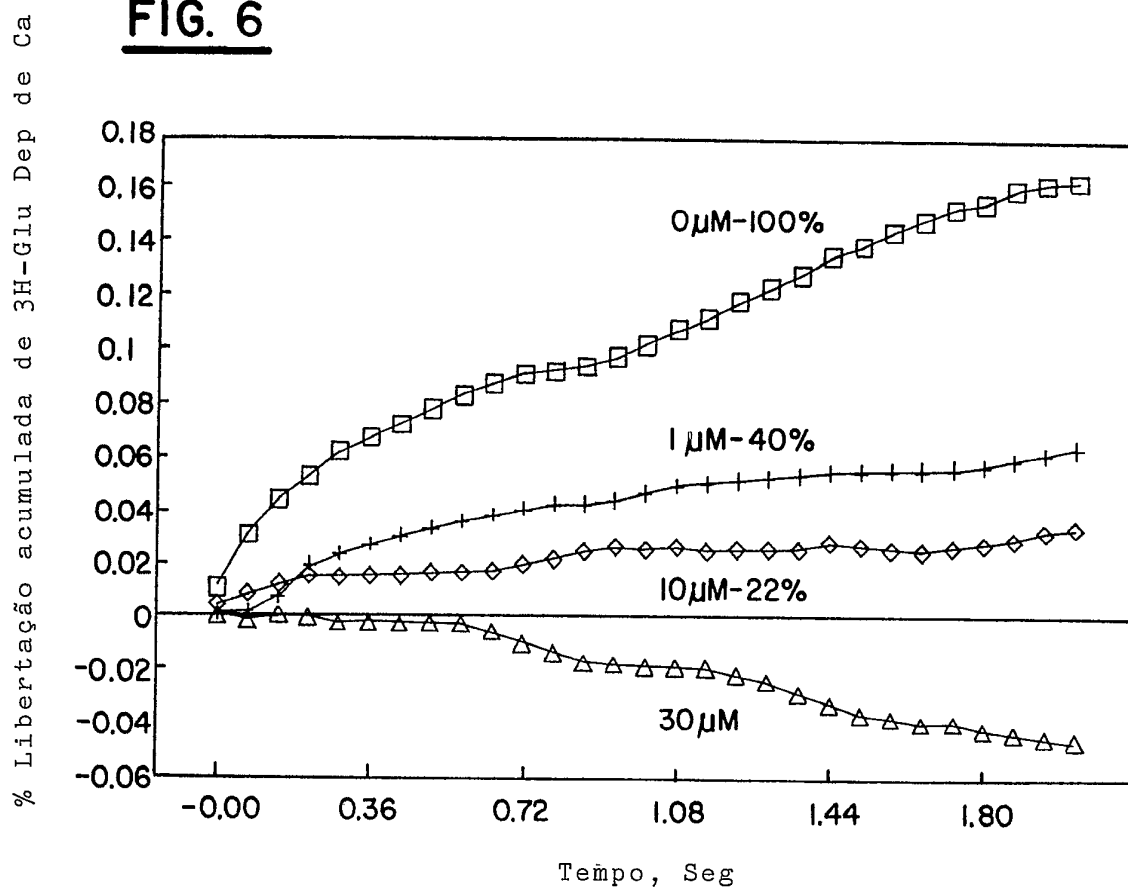
% de bloqueio da COMP. FÁSICA da libertação de 3H-GLU

FIG. 5

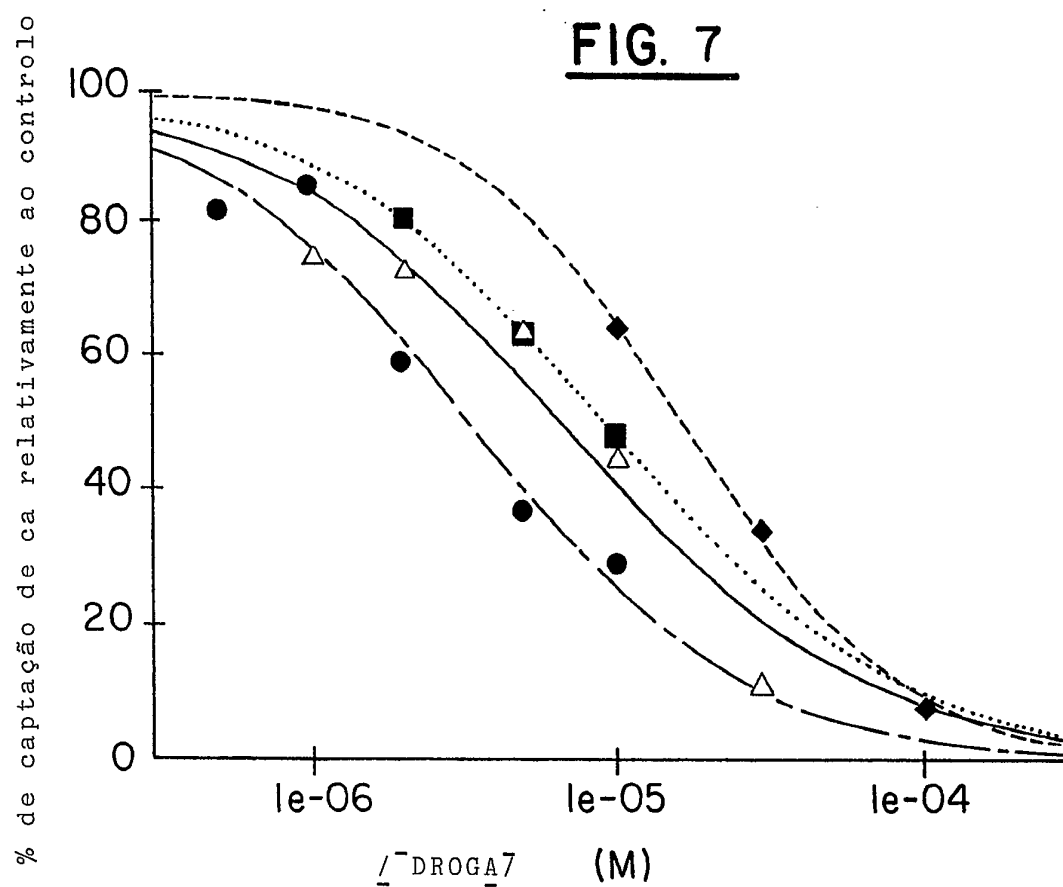


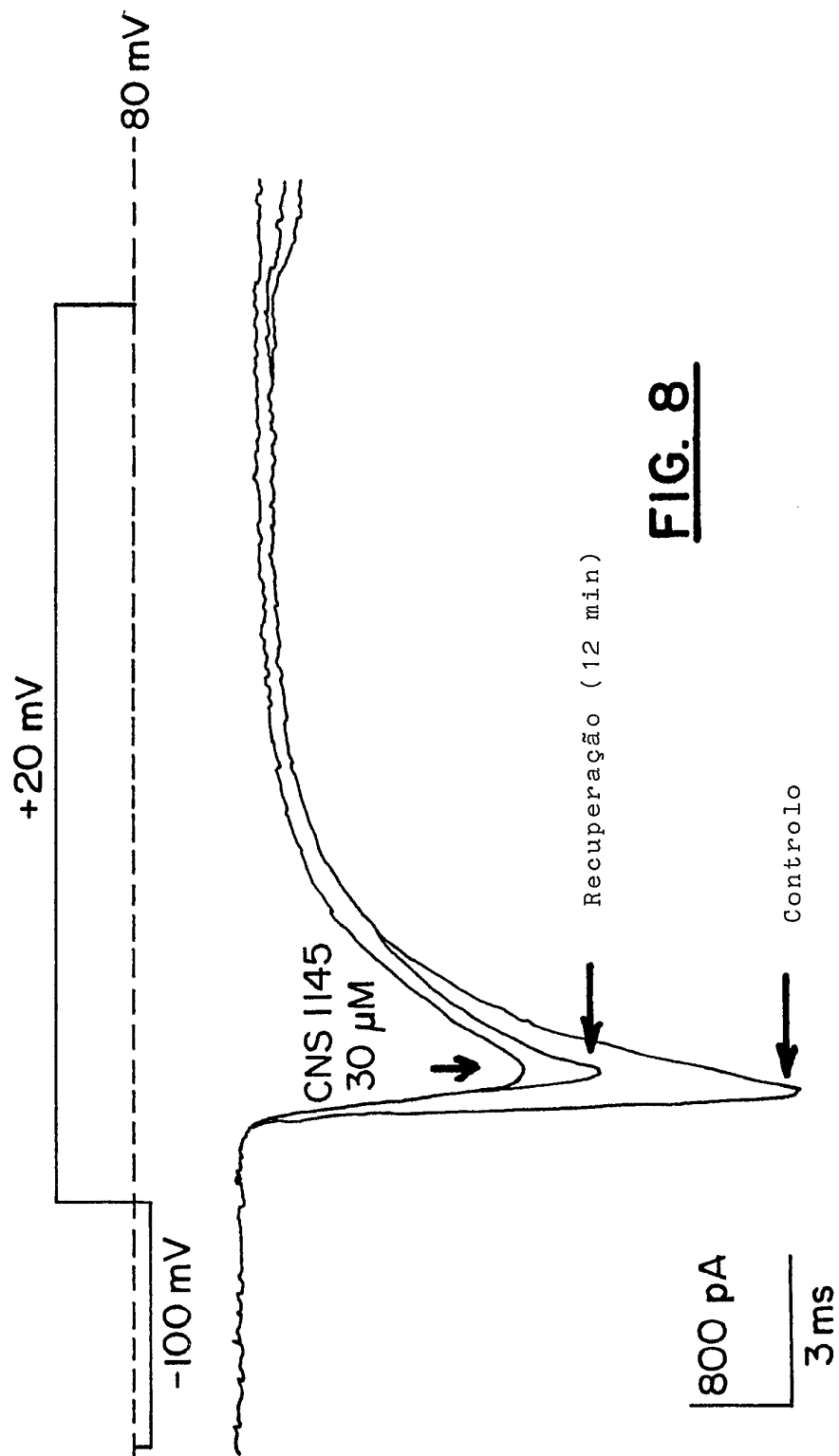
[Handwritten signature]

FIG. 6



Handwritten signature or initials.





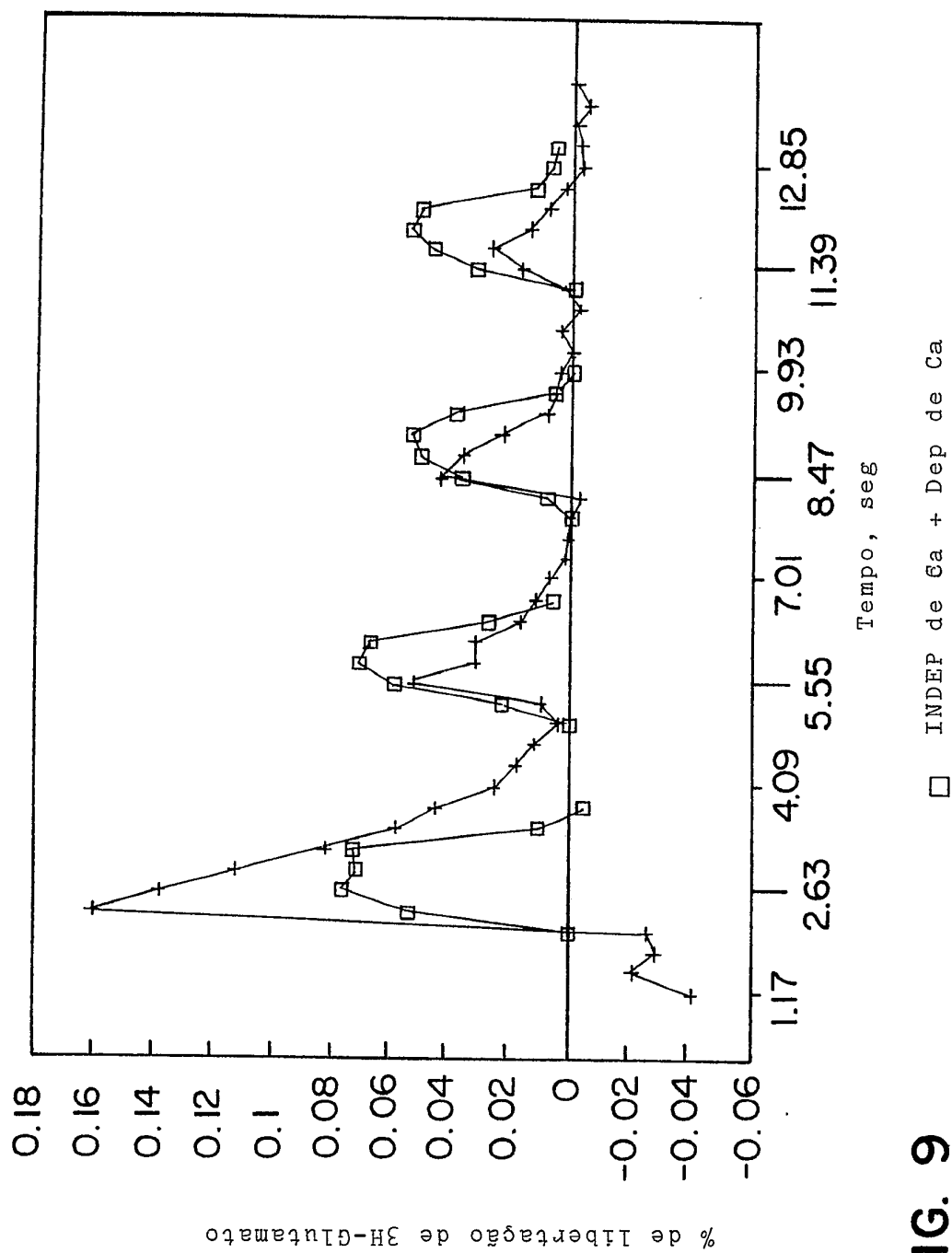


FIG. 9

FIG. 10

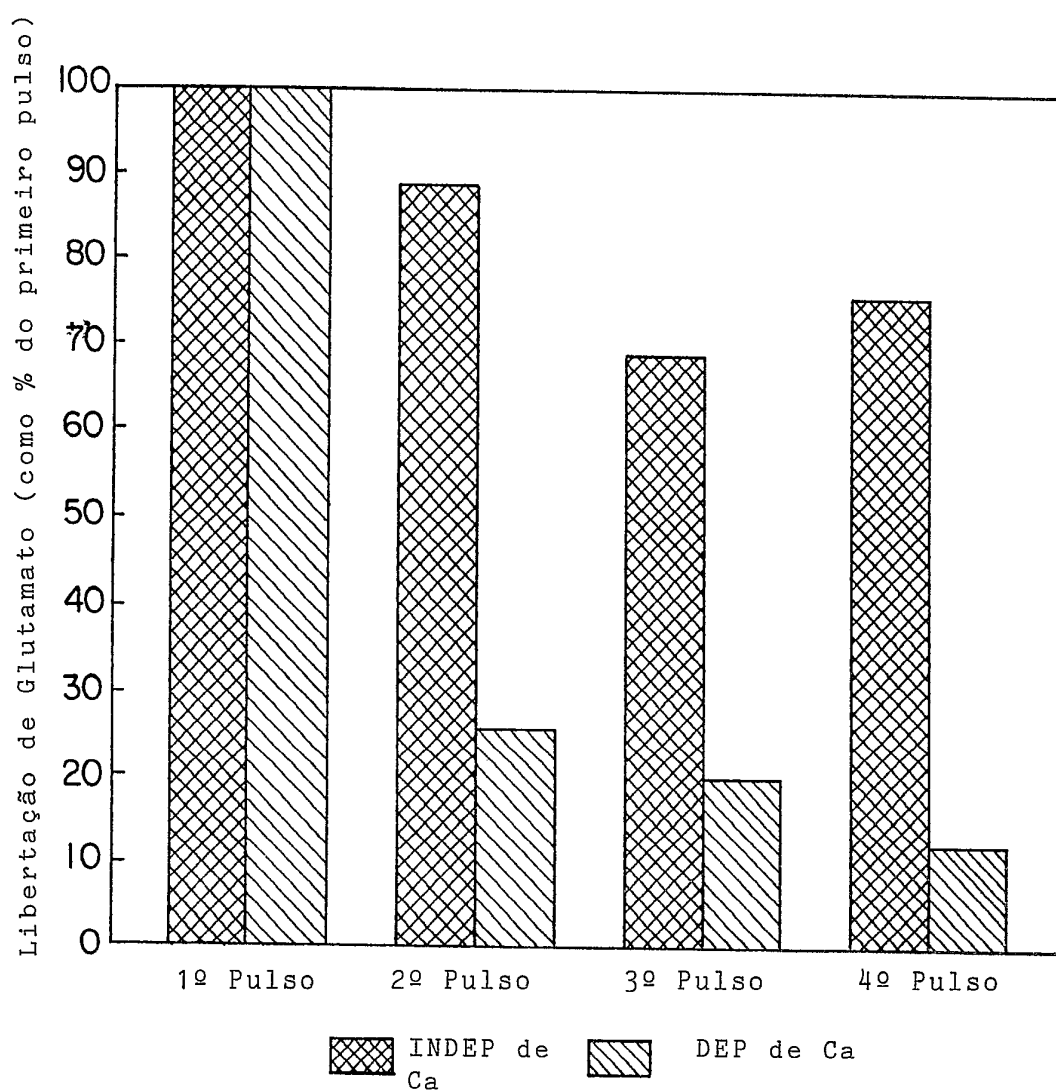


FIG. II

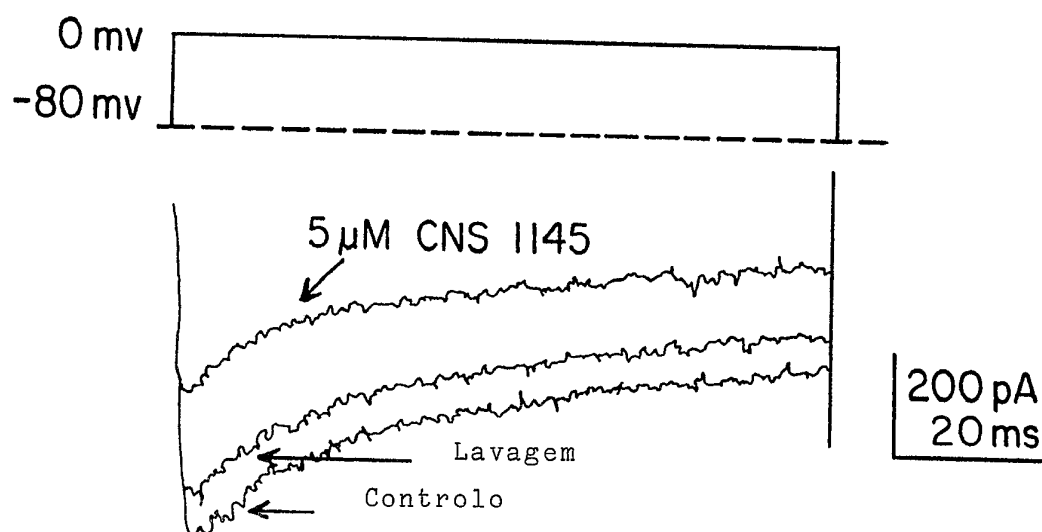
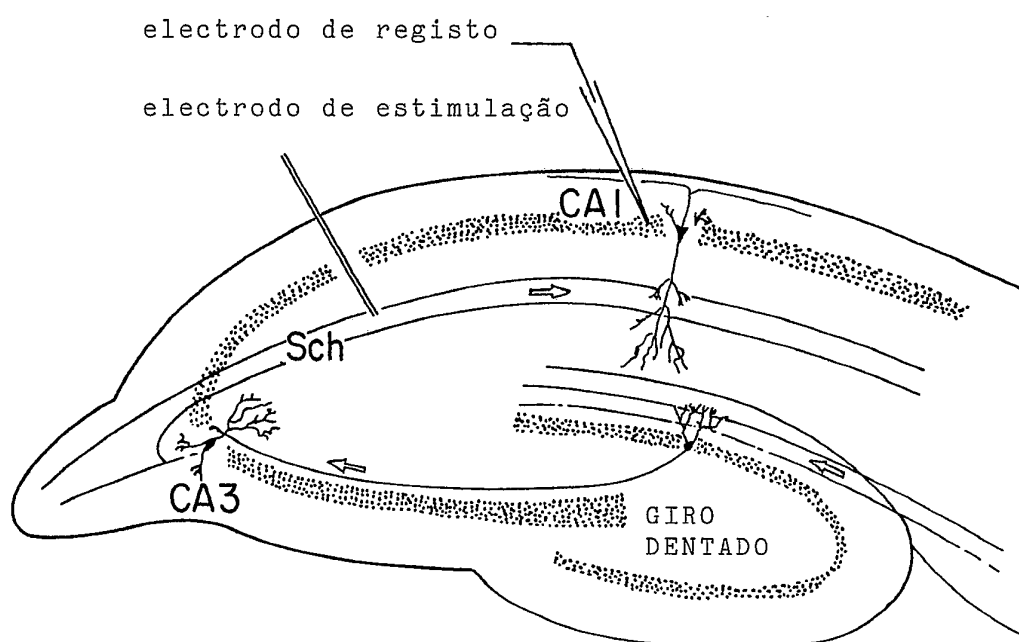


FIG. 12





Camada sináptica

camada do corpo celular

— controle
— CNS 1145 (20 μ M)
— Lavagem

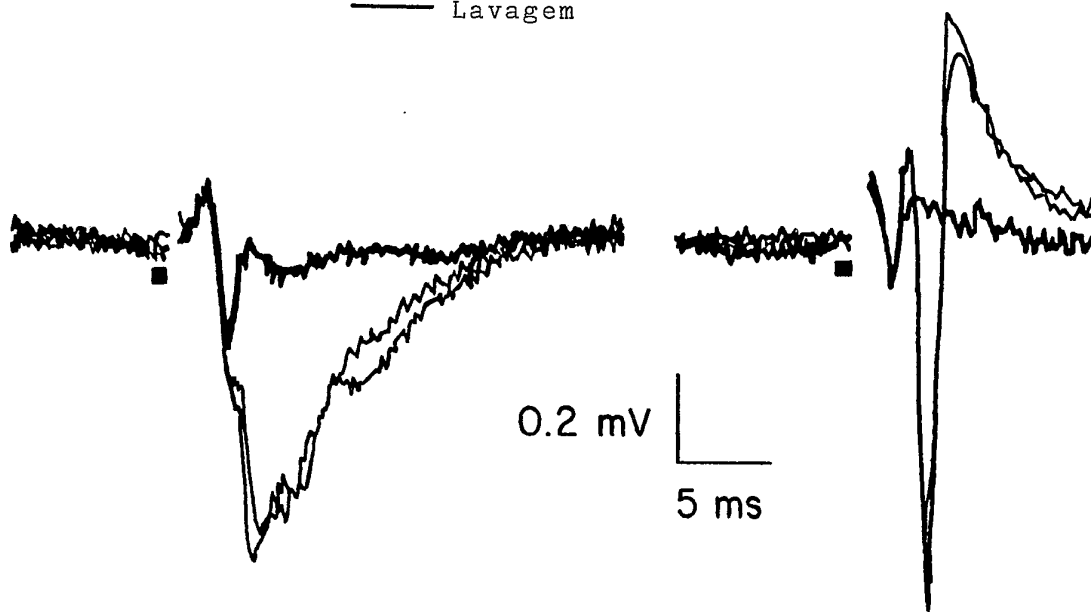
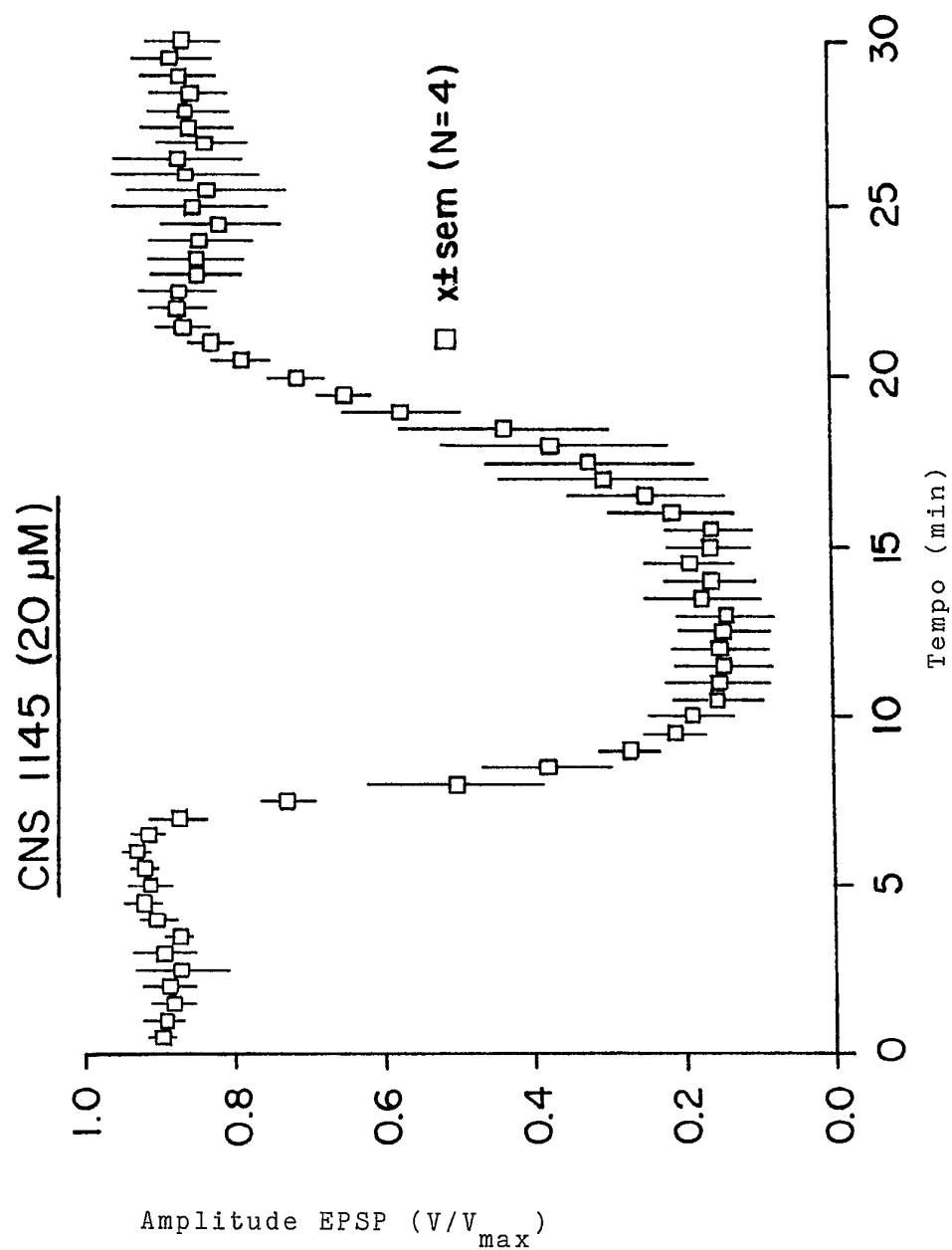


FIG. 13B

FIG. 13A

FIG. 13C



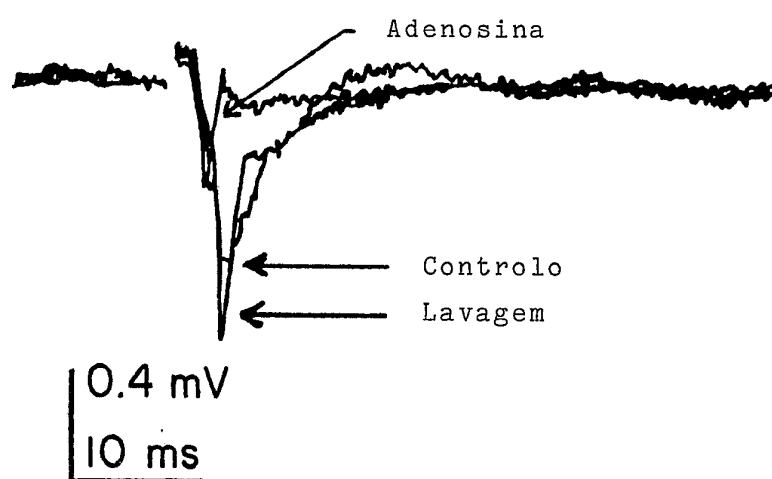


FIG. 14A

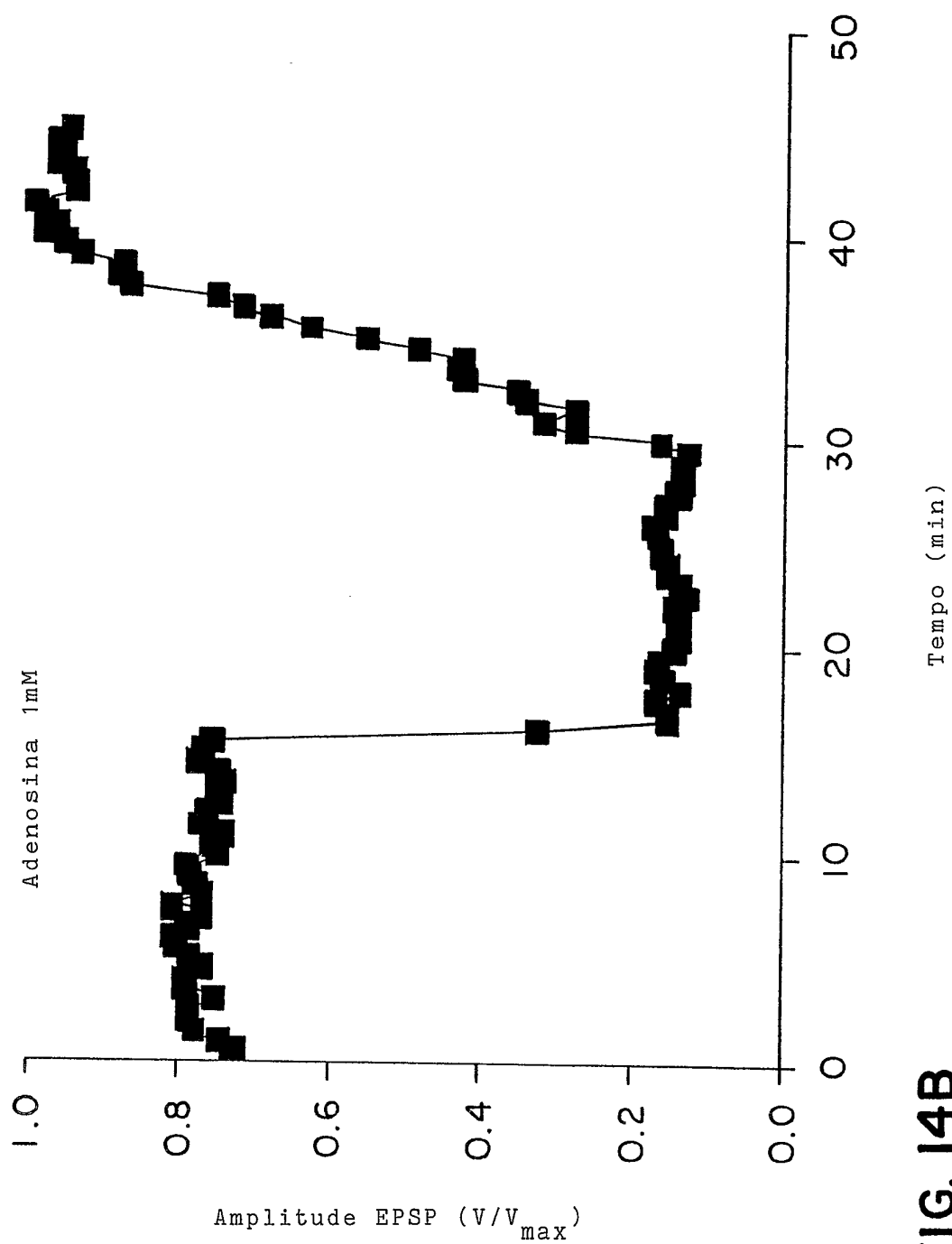


FIG. 14B