



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

(21) **PI0613010-0 A2**

(22) Data de Depósito: 07/07/2006  
(43) Data da Publicação: 14/12/2010  
(RPI 2084)



(51) *Int.Cl.:*  
A61K 31/27

(54) Título: **USO DE COMPOSTO OU DE ENANTIÔMERO OU SAL OU ÉSTER FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO PARA TRATAR EPILEPTOGÊNESE, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E KIT**

(30) Prioridade Unionista: 12/07/2005 US 60/698,625

(73) Titular(es): JANSSEN PHARMACEUTICA N.V.

(72) Inventor(es): Boyu Zhao, Roy E. Twyman

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2006026277 de 07/07/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/008551 de 18/01/2007

(57) Resumo: Patente de Invenção: USO DE COMPOSTO OU DE ENANTIÔMERO OU SAL OU ÉSTER FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO PARA TRATAR EPILEPTOGÊNESE, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E KIT. A presente invenção refere-se a usos para prevenir, tratar, reverter, inibir, ou interromper a epileptogênese em um sujeito compreendendo administrar ao sujeito que necessite do mesmo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (I) e Fórmula (II), ou um sal ou éster farmacêuticamente aceitável do mesmo: em que fenila é substituída em X com um a cinco átomos de halogênio selecionados entre o grupo consistindo em flúor, cloro, bromo e iodo; e, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> e R<sub>6</sub> são selecionados de modo independente entre o grupo consistindo em hidrogênio e C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila; em que C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila é opcionalmente substituída com fenila (em que fenila é opcionalmente substituída com substituintes selecionados de modo independente entre o grupo consistindo em halogênio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcóxi, amino, nitro e ciano).

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**USO DE COMPOSTO OU DE ENANTIÔMERO OU SAL OU ÉSTER FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO PARA TRATAR EPILEPTOGÊNESE, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E KIT**".

5 Antecedentes da Invenção

Campo da Invenção

A presente invenção refere-se de modo geral, aos campos de farmacologia, neurologia e psiquiatria. Em particular, a presente invenção refere-se a Usos para tratar, prevenir, reverter, interromper ou inibir o desenvolvimento e a maturação de ataques apopléticos ou distúrbios relacionados com ataques apopléticos. Mais especificamente, esta invenção proporciona Usos para o uso de alguns compostos de carbamato para tratar, prevenir, reverter, interromper ou inibir terapêutica ou profilaticamente a epileptogênese.

Descrição da Técnica Relacionada

15 Lesões ou trauma de vários tipos do sistema nervoso central (CNS) ou do sistema nervoso periférico (SNP) podem produzir distúrbios e sintomas neurológicos e psiquiátricos profundos e duradouros. Um mecanismo comum para a produção destes efeitos é a indução de atividade de ataque apoplético ou fenômenos semelhantes a ataque apoplético no sistema nervoso central ou nos nervos e gânglios do sistema nervoso periférico. Sintomático de distúrbios paroxísmicos na atividade elétrica do sistema nervoso central ou do sistema nervoso periférico, acredita-se que ataques apopléticos ou mecanismos neurológicos semelhantes a ataque apoplético fundamentam muitos dos fenômenos patológicos em uma ampla variedade de distúrbios neurológicos e psiquiátricos.

25 Uma condição neurológica grave caracterizada por ataques apopléticos é epilepsia. Epilepsia é um distúrbio comum mas devastador que afeta mais de dois e meio milhões de pessoas somente nos Estados Unidos. O termo epilepsia se refere a um distúrbio da função cerebral caracterizado pela ocorrência periódica e imprevisível de ataques apopléticos (Vide, The Treatment of Epilepsy, Principles & Practice, Third Edition, Elaine Wyllie, M.D. Editor, Lippincott Williams & Wilkins, 2001; Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9<sup>th</sup> edition, 1996). Ataques apopléticos

30

que ocorrem sem provocação evidente são classificados como epiléticos. Um sujeito é tipicamente considerado como sofrendo de epilepsia ao sofrer dois ou mais ataques apopléticos que ocorrem com mais de 24 horas de diferença.

5                   Clinicamente, um ataque epilético resulta de uma descarga elétrica súbita e anormal originária de um conjunto de neurônios interconectados no cérebro ou alhures no sistema nervoso. Dependendo do tipo de epilepsia envolvida, a atividade das células nervosas resultante pode ser manifestada por uma ampla variedade de sintomas clínicos tais como mo-  
10                   vimentos motores incontrolláveis, alterações no nível de consciência dos pacientes e similares.

                    Com base em fenômenos clínicos e encefalográficos, são reconhecidas quatro subdivisões de epilepsia: epilepsia de grande mal (com os subgrupos: generalizada, focal, jacksoniana), epilepsia de pequeno mal, epi-  
15                   lepsia do lobo temporal ou psicomotora (com os subgrupos: psicomotora própria ou tônica com movimentos adversivos ou de torsão ou fenômenos mastigatórios, automática com amnésia, ou sensorial com alucinações ou estados de sonho) e epilepsia diencefálica ou autônoma (com rubor, palidez, taquicardia, hipertensão, perspiração ou outros sintomas viscerais).

20                   Apesar da epilepsia ser um dos principais exemplos de um distúrbio relacionado com ataque apoplético, uma ampla variedade de sintomas e distúrbios neurológicos e psiquiátricos podem ter, como sua etiologia, ataques apopléticos ou fenômeno neurológico semelhante a relacionado com ataque apoplético. Em termos simples, um ataque apoplético ou um  
25                   fenômeno neurológico semelhante a relacionado com ataque apoplético é um único evento clínico distinto provocado por uma descarga elétrica excessiva de um conjunto de neurônios ou um grupo de neurônios suscetíveis a ataque apoplético através de um processo denominado "ictogênese." Deste modo, ataques apopléticos ictogênicos podem ser meramente o sintoma de  
30                   uma doença. No entanto, epilepsia e outros distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos são doenças dinâmicas e freqüentemente progressivas, com um processo de maturação caracterizado por uma seqüência

complexa e insuficientemente entendida de transformações patológicas.

O desenvolvimento e a maturação de similares alterações é o processo de "epileptogênese", por meio do qual o maior conjunto de neurônios que é o cérebro normal é alterado e subseqüentemente se torna suscetível a descargas elétricas anormais, espontâneas, súbitas, recorrentes e excessivas, isto é, ataques apopléticos. A maturação do processo epileptogênico resulta no desenvolvimento de um "foco epileptogênico", por meio do qual os conjuntos de neurônios com descargas anormais ou neurônios suscetíveis a ataques apopléticos formam grupos localizados ou "zonas epileptogênicas" espalhadas por todo o tecido cortical. As zonas epileptogênicas são bioquimicamente interconectadas de tal modo que uma descarga ictogênica anormal é capaz de formar cascata de zona para zona. À medida que a epileptogênese progride, as áreas envolvidas do sistema nervoso se tornam mais suscetíveis a um ataque apoplético e se tornam mais fáceis para ser disparado um ataque apoplético, resultando em sintomas progressivamente debilitantes do ataque apoplético ou distúrbio relacionado com ataque apoplético.

Apesar da ictogênese e a epileptogênese poderem ter uma origem comum em alguns caminhos neuronais comuns e fenômenos bioquímicos em várias doenças, os dois processos não são idênticos. Ictogênese é a iniciação e propagação de um ataque apoplético em um tempo e espaço distintos, um evento elétrico / químico rápido e definitivo que ocorre durante um período de tempo variando de segundos a minutos.

Comparativamente, epileptogênese é um processo de reestruturação neuronal ou bioquímico gradual por meio do qual o cérebro normal é transformado por eventos ictogênicos em um cérebro epileptogenicamente focalizado, tendo conjunto de circuitos neuronais que se tornam sensibilizados e responsivos a eventos ictogênicos, tornando um indivíduo cada vez mais suscetível à recorrência de ataques apopléticos espontâneos, episódicos, limitados no tempo, resultando em sintomas progressivamente debilitantes do ataque apoplético ou distúrbio relacionado com ataque apoplético e progressiva não-responsividade a tratamento. A maturação de um "foco

epileptogênico" é um lento processo bioquímico e/ou estrutural que geralmente ocorre durante meses a anos.

#### Epileptogênese: Uma Processo de Duas Fases:

5 "Epileptogênese Fase 1" é a iniciação do processo epileptogênico antes do primeiro ataque epilético ou ataque apoplético de um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo, e é freqüentemente o resultado de algum tipo de lesão ou trauma do cérebro, isto é, derrame, doença (por exemplo, infecção tal como meningite), ou trauma, tal como um golpe acidental para a cabeça ou um procedimento cirúrgico realizado no cérebro.

10 "Epileptogênese Fase 2" se refere ao processo durante o qual o tecido cerebral que já é suscetível a ataques epiléticos ou ataques apopléticos de um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo, se torna ainda mais suscetível a ataques apopléticos de crescente freqüência e/ou severidade e/ou se torna menos responsivo a tratamento.

15 Apesar dos processos envolvidos na epileptogênese não terem sido definitivamente identificados, alguns pesquisadores acreditam que esteja envolvida a regulação para cima de ligação excitatória entre neurônios, mediada por receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA). Outros pesquisadores implicam a regulação para baixo de ligação inibitória entre neurônios, mediada por receptores de ácido gama-amino-butírico (GABA). Muitos outros  
20 fatores podem estar envolvidos neste processo relativos à presença, concentração ou atividade de NO (óxido nítrico) ou íons ferro, cálcio ou zinco.

Embora raramente os ataques epiléticos sejam fatais, grandes números de pacientes requerem medicação para evitar as conseqüências disruptivas, e potencialmente perigosas dos ataques apopléticos. Em muitos  
25 casos, a medicação usada para tratar os ataques epiléticos ou ataques apopléticos de um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo é requerida por períodos de tempo prolongados, e em alguns casos, um paciente deve continuar a tomar os fármacos de prescrição referidos por toda a  
30 vida. Além disso, os fármacos referidos somente podem ser usados para o tratamento de sintomas e têm efeitos colaterais associados com uso crônico e prolongado.

Uma ampla variedade de fármacos disponíveis para o tratamento de ataques epiléticos incluem agentes mais antigos tais como fenitoína, valproato e carbamazepina (bloqueadores de canais iônicos), bem como agentes mais novos tais como felbamato, gabapentina, topiramato e tiagabina. Além disso, foi reportado que a  $\beta$ -alanina tem atividade antiataque apoplético, atividade inibitória de NMDA e atividade GABAérgica estimulatória, mas não tem sido empregada clinicamente para tratar epilepsia.

Os fármacos aceitos para o tratamento de epilepsia são agentes anticonvulsivantes ou, mais adequadamente denominados, fármacos anti-epiléticos (AEDs), em que o termo "anti-epilético" é sinônimo com "antiataque apoplético" ou "antiictogênico". Estes fármacos suprimem terapeuticamente ataques apopléticos bloqueando a iniciação de um único ictogênico. Mas se acredita que eles não sejam profilática ou terapeuticamente eficazes para influenciar a epileptogênese.

No tratamento de ataques apopléticos para distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos, isto é, para doenças e distúrbios com fenômenos neurológicos semelhantes a ataques apopléticos que aparentemente podem ser relacionados com distúrbios de ataques apopléticos, tal como alteração de humor no Distúrbio Bipolar, comportamento impulsivo em pacientes com Distúrbios de Controle de Impulso ou para ataques apopléticos resultantes de lesão cerebral, alguns AEDs também podem ser úteis terapeuticamente. No entanto, eles igualmente são incapazes de prevenir profilática ou terapeuticamente o desenvolvimento inicial ou a maturação progressiva de epileptogênese para um foco epileptogênico que também caracteriza distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos.

Os mecanismos patológicos pobremente compreendidos que fundamentam a epileptogênese com certeza têm um papel no desenvolvimento da epilepsia e de distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos sob uma variedade de circunstâncias clínicas incluindo desenvolvimento espontâneo ou em conseqüência de lesão ou trauma de muitos tipos para o sistema nervoso central ou periférico.

O tratamento atual da epilepsia está focalizado na supressão de

atividade de ataque apoplético administrando AEDs depois que se desenvolveu epilepsia clínica patente. Embora os AEDs tenham efeitos positivos na supressão de ataques apopléticos, podem ser universalmente sem êxito na prevenção da epileptogênese, isto é, o desenvolvimento ou progressão de epilepsia e outras doenças como ataques apopléticos relacionados. Mesmo pré-tratamento com AEDs não previne o desenvolvimento de epilepsia depois de lesão ou trauma do sistema nervoso. Além disso, se a terapia com AEDs for descontinuada, os ataques apopléticos tipicamente recidivam e, em casos infelizes, pioram com o tempo. Atualmente, não há método eficaz conhecido para tratar, prevenir, reverter, interromper ou inibir o início e/ou a progressão da epilepsia.

Além disso, também se acredita que mecanismos neurológicos similares correspondentes a epileptogênese podem estar envolvidos na evolução e no desenvolvimento de muitos distúrbios relacionados com ataques apopléticos clinicamente análogos a epilepsia que não parecem ser patentemente "epilépticos", tais como o desenvolvimento inicial e progressiva piora observados no estado de doença madura no Distúrbio Bipolar, Distúrbios de Controle de Impulso, Distúrbios Obsessivo-Compulsivos, Distúrbios Esquizoafetivos e outros Distúrbios Psiquiátricos.

Portanto, apesar dos numerosos fármacos disponíveis para o tratamento de epilepsia (isto é, através da supressão do ictus epilepticus, isto é, as convulsões associadas com ataques epilépticos) e outros distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos, não há fármacos aceitos de modo geral para tratar, prevenir, reverter, interromper ou inibir o processo subjacente da epileptogênese que pode ser etiológico em muitos distúrbios neurológicos e psiquiátricos devastadores tais como epilepsia e distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos.

Atualmente, não há métodos conhecidos para inibir o processo epileptogênico para prevenir o desenvolvimento de epilepsia ou outros distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos em pacientes os quais ainda não apresentaram clinicamente sintomas dos mesmos, mas os quais têm a doença sem saber ou estão em risco de desenvolver a doença.

ALém disso, não há métodos conhecidos para prevenir o desenvolvimento de ou reverter o processo de epileptogênese, deste modo convertendo os conjuntos de neurônios em uma zona epileptogênica a qual tenha sido a fonte de ou sejam suscetíveis ou sejam capazes de participar em atividade de ataque apoplético em tecido nervoso que não apresenta descargas elétricas anormais, espontâneas, súbitas, recorrentes ou excessivas ou não é suscetível a ou capaz de similar atividade de ataque apoplético. Além disso, não há medicações aprovadas ou não aprovadas como tendo semelhantes propriedades anti-epileptogênicas, isto é, fármacos verdadeiramente anti-epileptogênicos (AEGDs) (Vide, Schmidt, D. and Rogawski, M. A., *Epilepsy Research*, 2002, 50; 71-78).

Portanto, há uma grande necessidade de desenvolver fármacos e métodos de tratamento seguros e eficazes que tratam, previnem, interrompem, inibem e reverterem de modo eficaz epileptogênese em distúrbios neurológicos e/ou psiquiátricos relacionados com ataque apoplético.

#### Sumário da Invenção

Esta invenção se refere, em parte, a métodos e compostos úteis para o tratamento e/ou a prevenção, interrupção, inibição e reversão da epileptogênese em um paciente o qual pode mas não precisa ter os sintomas de epilepsia e/ou um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo.

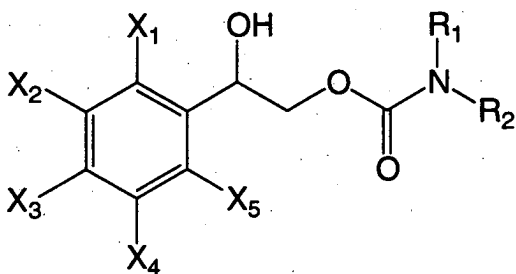
Esta invenção se baseia, em parte, na inesperada descoberta de que alguns compostos de carbamato, os quais são AEDs eficazes e podem suprimir ataques epiléticos são, além disso, poderosamente anti-epileptogênicos e podem prevenir a ocorrência do desenvolvimento e maturação das alterações patológicas no sistema nervoso que permitem que ataques apopléticos e fenômenos relacionados se desenvolvam e/ou se espalhem e podem reverter estas alterações. Portanto, os compostos de carbamato da presente invenção, conforme usado nos métodos desta invenção, são AEGDs verdadeiros e têm propriedades não possuídas por qualquer medicação atualmente disponível ou AED.

Portanto, em um aspecto, a invenção proporciona um método para tratar e prevenir ataques apopléticos e distúrbios relacionados com a-

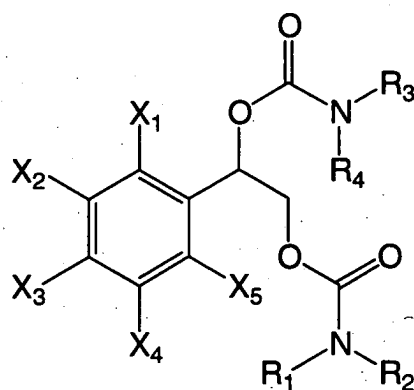
taques apopléticos em um sujeito que necessite do mesmo. Em outro aspecto, a invenção proporciona um método para interromper, inibir e reverter a epileptogênese no sujeito. O método inclui a etapa de administrar profilática ou terapêuticamente ao sujeito que necessite do mesmo uma quantidade eficaz de um composto de carbamato que trata, previne, interrompe, inibe e reverte epileptogênese no sujeito.

Em várias modalidades, a invenção proporciona métodos para tratar, prevenir, reverter, interromper ou inibir a epileptogênese. Em algumas modalidades, estes métodos compreendem administrar uma quantidade profilática ou terapêuticamente eficaz de um composto de carbamato ao sujeito.

Por conseguinte, a presente invenção proporciona métodos para tratar, prevenir, interromper, inibir e reverter a epileptogênese em um sujeito que necessite do mesmo compreendendo administrar ao sujeito uma quantidade profilática ou terapêuticamente eficaz de uma composição que compreende no mínimo um composto de Fórmula 1 ou Fórmula 2:



Fórmula 1



Fórmula 2

ou uma forma de sal ou éster farmacologicamente aceitável do mesmo, em que

$R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$  são de modo independente hidrogênio ou  $C_1$ - $C_4$  alquila, em que

$C_1$ - $C_4$  alquila é substituída ou não-substituída com fenila, e em que fenila é substituída ou não-substituída com até cinco substituintes selecionados de modo independente entre halogênio,  $C_1$ - $C_4$  alquila,  $C_1$ - $C_4$  alcóxi, amino (em que amino é opcionalmente mono ou dissubstituído com  $C_1$ - $C_4$

alquila), nitro ou ciano; e  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$  e  $X_5$  são de modo independente hidrogênio, flúor, cloro, bromo ou iodo.

Modalidades da presente invenção incluem um composto de Fórmula 1 ou Fórmula 2 em que  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$  e  $X_5$  são selecionados de modo independente entre hidrogênio, flúor, cloro, bromo ou iodo.

Em algumas modalidades,  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$  e  $X_5$  são selecionados de modo independente entre hidrogênio ou cloro. Em outras modalidades,  $X_1$  é selecionado entre flúor, cloro, bromo ou iodo. Em outra modalidade,  $X_1$  é cloro, e  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$  e  $X_5$  são hidrogênio. Em outra modalidade,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$  são hidrogênio.

A presente invenção propociona enantiômeros de Fórmula 1 ou Fórmula 2 para tratar epileptogênese em um sujeito que necessite do mesmo. Em algumas modalidades, um composto de Fórmula 1 ou Fórmula 2 esatrá sob a forma de um único enantiômero do mesmo. Em outras modalidades, um composto de Fórmula 1 ou Fórmula 2 estará sob a forma de uma mistura enantiomérica na qual um enantiômero predomina com respeito a outro enantiômero.

Em outro aspecto, um enantiômero predomina em uma faixa de a partir de cerca de 90% ou mais. Em um aspecto adicional, um enantiômero predomina em uma faixa de a partir de cerca de 98% ou mais.

A presente invenção também proporciona métodos compreendendo administrar ao sujeito uma quantidade profilática ou terapêuticamente eficaz de uma composição que compreende no mínimo um composto de Fórmula 1 ou Fórmula 2 em que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$  são selecionados de modo independente entre hidrogênio ou  $C_1$ - $C_4$  alquila; e  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$  e  $X_5$  são selecionados de modo independente entre hidrogênio, flúor, cloro, bromo ou iodo.

Em modalidades da presente invenção, antes de administração profilática ou terapêutica da composição ao sujeito, será feita uma determinação quanto a se ou não o indivíduo sofre de epilepsia ou de um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo ou é considerado como estando em um alto risco para o desenvolvimento de similares ataques apopléticos ou distúrbios relacionados com ataques apopléticos.

A presente invenção também proporciona métodos para identificar um sujeito que necessite de administração profilática ou terapêutica de uma composição antiepiléptogênica, em que o indivíduo sofre de epilepsia ou de um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo ou é considerado como estando em um alto risco de desenvolver epilepsia ou em que o indivíduo necessita de tratamento com um AEGD. A presente invenção proporciona métodos compreendendo administrar profilática ou terapêuticamente ao sujeito uma composição que compreende no mínimo um composto tendo Fórmula 1 ou Fórmula 2.

Em algumas modalidades da presente invenção, uma quantidade profilática ou terapêuticamente eficaz de um composto de Fórmula 1 ou Fórmula 2 para o tratamento de epileptogênese está em uma faixa de a partir de cerca de 0,01 mg/Kg/dose a cerca de 150 mg/Kg/dose.

Em algumas modalidades, uma quantidade profilaticamente ou terapêuticamente eficaz de uma composição farmacêutica para prevenir, tratar, reverter, interromper ou inibir a epileptogênese compreendendo um ou mais dos enantiômeros de um composto de Fórmula 1 ou Fórmula 2 que inclui um sal ou éster farmacêuticamente aceitável do mesmo em mistura com um veículo ou excipiente farmacêuticamente aceitável, por meio do qual uma composição é administrado ao sujeito que necessite de tratamento com um AEGD. Composições farmacêuticas compreendendo no mínimo um composto tendo Fórmula 1 ou Fórmula 2 e um ou mais excipientes farmacêuticamente aceitáveis são administradas a um sujeito que necessite do mesmo.

Em algumas modalidades, um sujeito ou paciente que necessite de tratamento com um AEGD pode ser um que ainda não tenha apresentados os sintomas de epilepsia ou um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo antes do momento de administração.

Em outro aspecto, será determinado se o indivíduo ou paciente está em risco de desenvolver epilepsia ou um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo por ocasião da administração e deste modo será um sujeito, isto é, um paciente que necessite de tratamento com um AEGD. Em outras modalidades, o indivíduo que necessite do mesmo é um indivíduo

que apresentou os sintomas de epilepsia (por exemplo, ataques apopléticos patente) ou um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo (por exemplo, alteração de humor, comportamento impulsivo e similares) antes ou por ocasião da administração.

#### 5 Breve Descrição das Figuras

10 A figura 1 : é um gráfico que mostra os efeitos de doses crescentes de TC sobre o número de neurônios em diferentes áreas do hipocampo contadas em 14 dias depois de estado epiléptico induzido por li-pilo. Os valores são expressados como o número de corpos celulares neuronais em cada área de interesse  $\pm$  S.E.M.

15 A figura 2 : é um gráfico que mostra os efeitos de doses crescentes de TC sobre o número de neurônios em diferentes núcleos da amígdala contados em 14 dias depois de estado epiléptico induzido por li-pilo. Os valores são expressados como o número de corpos celulares neuronais em cada área de interesse  $\pm$  S.E.M.

20 A figura 3: é um gráfico que mostra os efeitos de doses crescentes de TC sobre o número de neurônios em diferentes núcleos do tálamo contados em 14 dias depois de estado epiléptico induzido por li-pilo. Os valores são expressados como o número de corpos celulares neuronais em cada área de interesse Os valores são expressados como o número de corpos celulares neuronais em cada área de interesse  $\pm$  S.E.M.

25 A figura 4: é um gráfico que mostra os efeitos de doses crescentes de TC sobre o número de neurônios em diferentes áreas do córtex contados em 14 dias depois de estado epiléptico induzido por li-pilo. Os valores são expressados como o número de corpos celulares neuronais em cada área de interesse  $\pm$  S.E.M.

30 A figura 5: é um gráfico que mostra os efeitos de doses crescentes de TC sobre a latência para o primeiro espontâneo ataque apoplético. Os valores são expressados como a latência média em dias para cada grupo  $\pm$  S.E.M.

A figura 6: é um gráfico que mostra os efeitos de doses crescentes de TC sobre a freqüência de ataques apopléticos espontâneos registra-

dos em vídeo durante um período de 4 semanas. Os valores são expressados como o número médio de ataques apopléticos  $\pm$  S.E.M. O total representa o número total de ataques apopléticos observados durante as 4 semanas de registro em vídeo e a média representa o número médio de ataques apopléticos por semana. O teste Anova demonstrou um efeito do tratamento sobre o número total de ataques apopléticos ( $p = 0,045$ ) e o número médio de ataques apopléticos por semana ( $p = 0,045$ ).

A figura 7: mostra o número total de ataques apopléticos registrados em vídeo durante quatro semanas plotados de acordo com a latência para o primeiro ataque apoplético espontâneo (SL = latência curta, LL = latência longa). Os valores são expressados como o número médio de ataques apopléticos para cada subgrupo  $\pm$  S.E.M. O teste ANOVA não apresentou qualquer efeito significativo do tratamento.

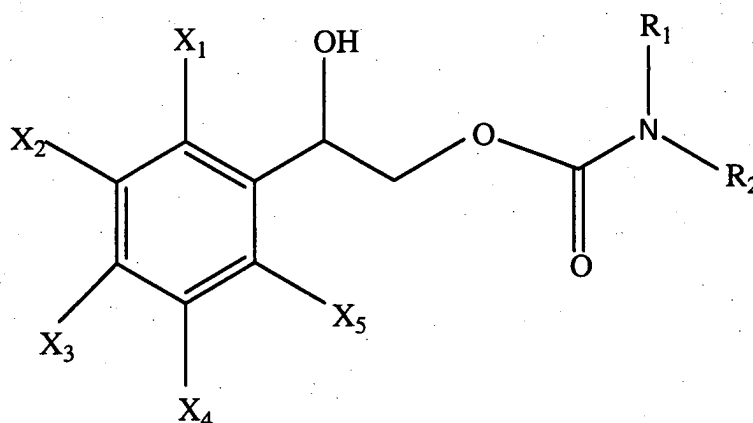
A figura 8: mostra a correlação entre a latência para o primeiro ataque apoplético espontâneo e o número total de ataques apopléticos observados durante as quatro semanas seguintes.

#### Descrição Detalhada da Invenção

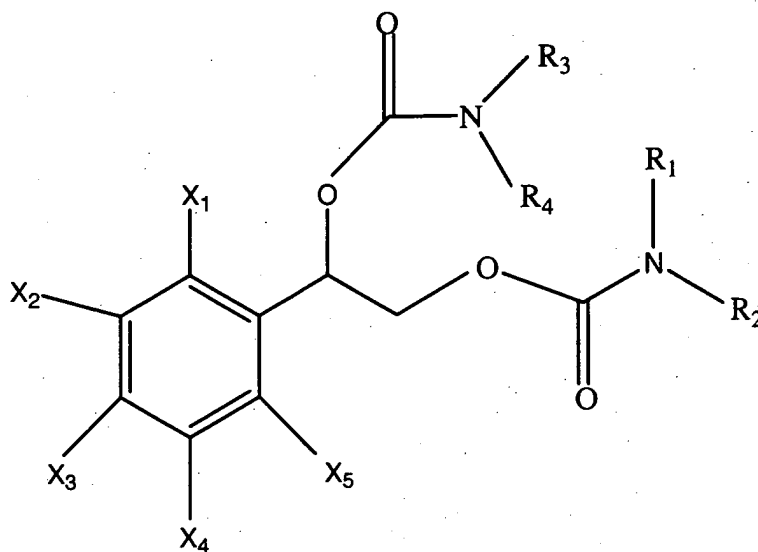
#### Os Compostos de Carbamato da Invenção

A presente invenção proporciona métodos para usar monocarbomatos e dicarbomatos de 2-fenil-1, 2-etanodiol no tratamento / na prevenção de epileptogênese.

Compostos de carbamato representativos de acordo com a presente invenção incluem aqueles tendo Fórmula 1 ou Fórmula 2:



Fórmula 1



Fórmula 2

em que:

$R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , e  $R_4$  são, de modo independente, hidrogênio ou C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila e  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ , e  $X_5$  são, de modo independente, hidrogênio, flúor, cloro, bromo ou iodo.

- 5 "C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila" conforme usado aqui se refere a hidrocarbonetos alifáticos substituídos ou não-substituídos tendo de 1 a 4 átomos de carbono. Especificamente incluídos dentro da definição de "alquila" estão os hidrocarbonetos alifáticos que são opcionalmente substituídos. Em uma modalidade preferencial da presente invenção, a C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila é ou não-
- 10 substituída ou substituída com fenila.

O termo "fenila", conforme usado aqui, quer usado somente ou como parte de outro grupo, é definido como um grupo de anel hidrocarboneto aromático substituído ou não-substituído tendo 6 átomos de carbono. Especificamente incluídos dentro da definição de "fenila" estão os grupos fenila

15 que são opcionalmente substituídos. Por exemplo, em uma modalidade preferencial da presente invenção, o grupo "fenila" é ou não-substituído ou substituído com halogênio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquil, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcóxi, amino, nitro, ou ciano.

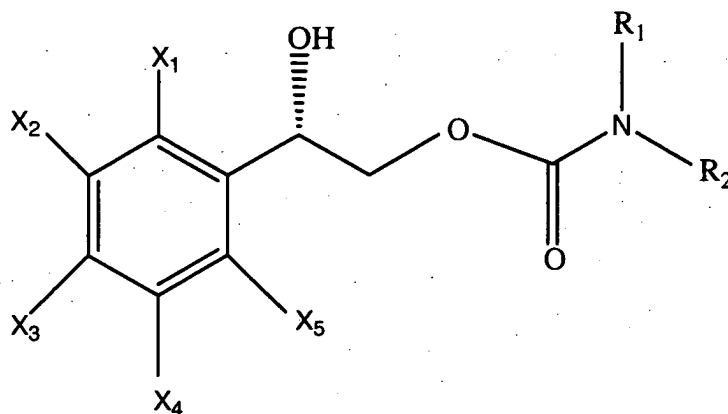
Em uma modalidade preferencial da presente invenção,  $X_1$  é flúor, cloro, bromo ou iodo e  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ , e  $X_5$  são hidrogênio.

- 20 Em outra modalidade preferencial da presente invenção,  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ , e  $X_5$  são, de modo independente, cloro ou hidrogênio.

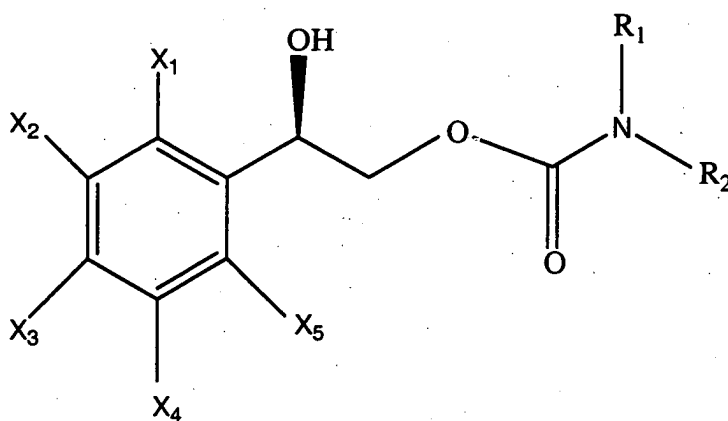
Em outra modalidade preferencial da presente invenção,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , e  $R_4$  são todos hidrogênio.

É entendido que substituintes e padrões de substituição sobre os compostos da presente invenção podem ser selecionados por uma pessoa versada na técnica para proporcionar compostos que sejam quimicamente estáveis e que possam ser prontamente sintetizados por técnicas conhecidas na área bem como os métodos proporcionados aqui.

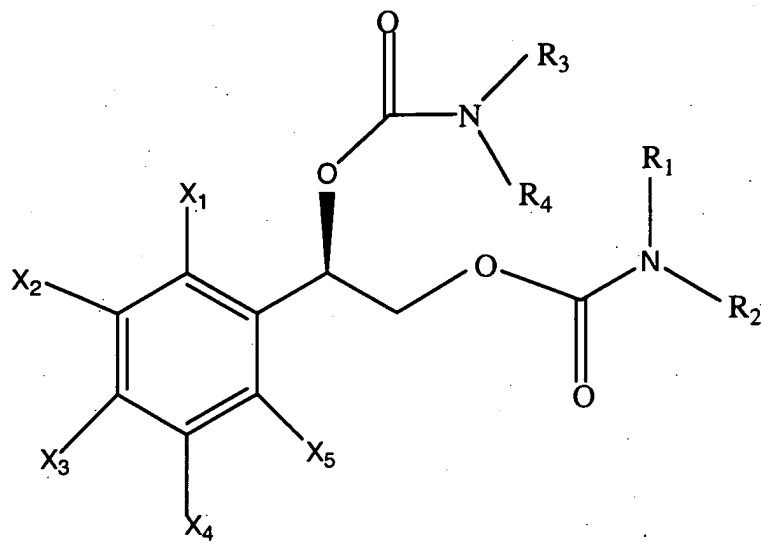
Monocarbamatos e dicarbamatos de 2-Fenil-1, 2-etanodiol representativos incluem, por exemplo, os seguintes compostos:



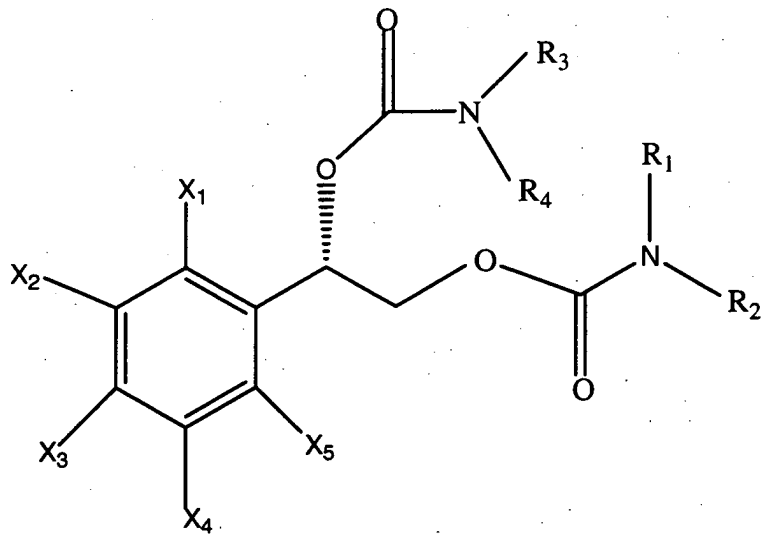
Fórmula 3



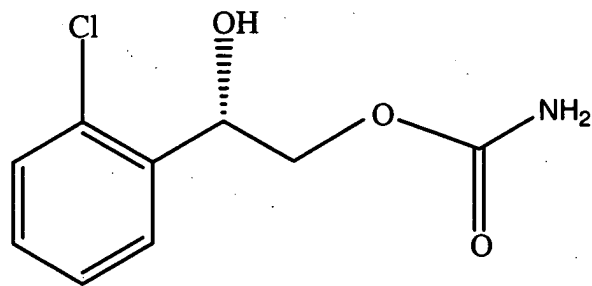
Fórmula 4



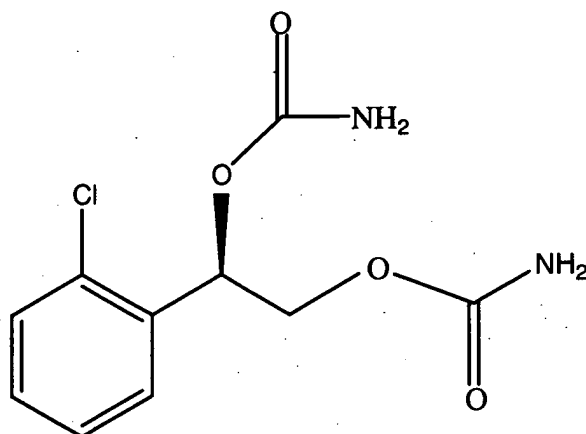
Fórmula 5



Fórmula 6



Fórmula 7



Fórmula 8

Métodos adequados para sintetizar e purificar compostos de carbamato, incluindo enantiômeros de carbamato, usados nos métodos da presente invenção são de conhecimento geral daqueles versados na técnica. Por exemplo, formas enantioméricas puras e misturas enantioméricas de monocarbomatos e dicarbomatos de 2-fenil-1, 2-etanodiol são descritas nas

5 Patentes dos Estados Unidos Números 5.854.283, 5.698.588, e 6.103.759, cujas descrições são aqui, incorporadas por meio de referência em sua totalidade.

A presente invenção inclui o uso de enantiômeros isolados de

10 Fórmula 1 ou Fórmula 2.

Em uma modalidade preferencial, uma composição farmacêutica compreendendo o S-enantiômero isolado de Fórmula 1 é usada para tratar epileptogênese em um sujeito.

Em outra modalidade preferencial, uma composição farmacêutica compreendendo o R-enantiômero isolado de Fórmula 2 é usada para tratar

15 epileptogênese em um sujeito.

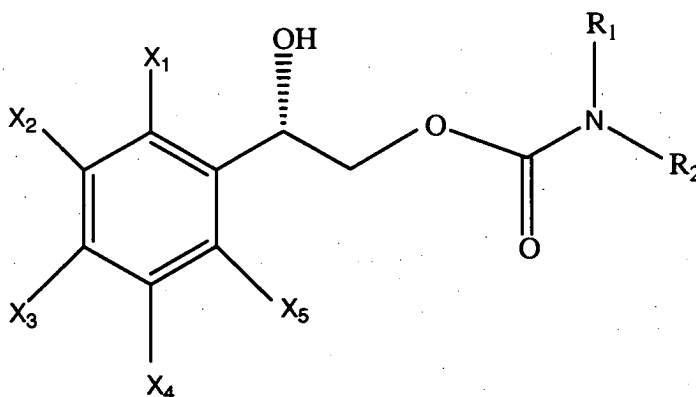
Em outra modalidade, uma composição farmacêutica compreendendo o S-enantiômero isolado de Fórmula 1 e o R-enantiômero isolado de Fórmula 2 pode ser usada para tratar epileptogênese em um sujeito.

A presente invenção também inclui o uso de misturas de enantiômeros de Fórmula 1 ou Fórmula 2. Em um aspecto da presente invenção, um enantiômero predominará. Um enantiômero que predomina na mistura é um que está presente na mistura em uma quantidade maior do que quais-

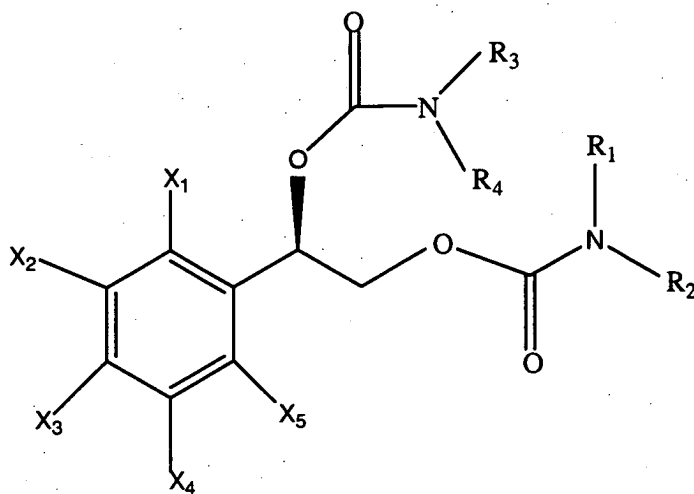
20

quer dos outros enantiômeros presentes na mistura, por exemplo, em uma quantidade maior do que 50%. Em um aspecto, um enantiômero predominará na extensão de 90% ou na extensão de 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% ou 98% ou mais. Em uma modalidade preferencial, o enantiômero que predomina em uma composição compreendendo um composto de Fórmula 1 é o S-enantiômero de Fórmula 1. Em outra modalidade preferencial, o enantiômero que predomina em uma composição compreendendo um composto de Fórmula 2 é o R-enantiômero de Fórmula 2.

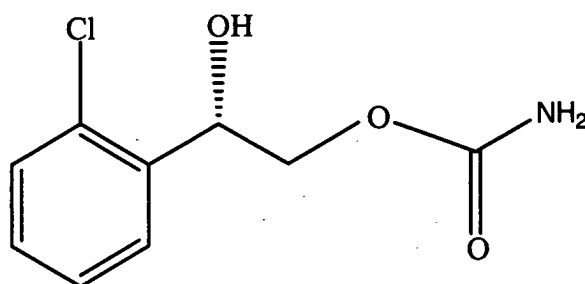
Em uma modalidade preferencial da presente invenção, o enantiômero que está presente como o único enantiômero ou como o enantiômero predominante em uma composição da presente invenção é representado pela Fórmula 3 ou Fórmula 5, em que  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$ ,  $X_5$ ,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , e  $R_4$  são definidos como acima, ou pela Fórmula 7 ou Fórmula 8.



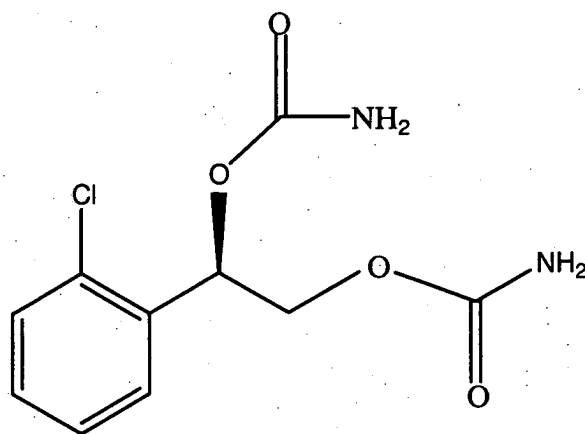
Fórmula 3



Fórmula 5



Fórmula 7



Fórmula 8

A presente invenção proporciona métodos para usar enantiômeros e misturas enantioméricas de compostos representados pela Fórmula 1 e pela Fórmula 2 ou uma forma de sal ou éster farmacologicamente aceitável do mesmo:

- 5 Um enantiômero de carbamato de Fórmula 1 ou Fórmula 2 contém um carbono quiral assimétrico na posição benzílica, o qual é o carbono alifático adjacente ao anel fenila.

Um enantiômero que é isolado é um enantiômero que é substancialmente livre do enantiômero correspondente. Deste modo, um enantiômero isolado se refere a um composto que é separado através de técnicas de separação ou preparado livre do enantiômero correspondente. "Substancialmente livre" conforme usado aqui significa que o composto é composto de uma proporção significativamente maior de um enantiômero. Em modalidades preferenciais, o composto inclui no mínimo cerca de 90% em peso de um enantiômero preferencial. Em outras modalidades da invenção, o composto inclui no mínimo cerca de 99% em peso de um enantiômero preferen-

cial. Enantiômeros preferenciais podem ser isolados de misturas racêmicas por qualquer método de conhecimento daqueles versados na técnica, incluindo cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) e a formação e cristalização de sais quirais, ou enantiômeros preferenciais podem ser preparados por métodos descritos aqui.

Métodos para a preparação de enantiômeros preferenciais seriam de conhecimento de uma pessoa versada na técnica e são descritos, por exemplo, em Jacques, et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen, S.H., et al., *Tetrahedron* 33:2725 (1977); Eliel, E.L. *Stereochemistry of Carbon Compounds* (McGraw-Hill, NY, 1962); e Wilen, S.H. *Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions* p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972). Adicionalmente, os compostos da presente invenção podem ser preparados conforme descrito na Patente dos Estados Unidos Nº 3.265.728 (cuja descrição é aqui, incorporada por meio de referência em sua totalidade e para todos os fins), na Patente dos Estados Unidos No. 3.313.692 (cuja descrição é aqui, incorporada por meio de referência em sua totalidade e para todos os fins), e as Patentes dos Estados Unidos previamente referidas Nºs 5.854.283, 5.698.588, e 6.103.759 (cujas descrições são aqui, incorporadas por meio de referência em sua totalidade e para todos os fins).

O processo epileptogênico geralmente consiste em duas fases. O primeiro estágio epileptogênico é conhecido como o estágio de lesão ou insulto inicial. A lesão ou insulto inicial é comumente uma lesão que danifica o cérebro causada por um ou mais de uma pluralidade de fatores possíveis incluindo, por exemplo, lesão cerebral traumática; infecção do sistema nervoso central, tal como, por exemplo, meningite bacteriana, encefalite viral, abscesso cerebral bacteriano ou neurocisticercose); doença cerebrovascular (tal como derrame ou tumor cerebral incluindo, por exemplo, gliomas malignos; neurocirurgia (tal como, por exemplo, craniotomias); e estado epiléptico.

Em alguns casos, o insulto inicial será uma consequência de problemas do desenvolvimento antes do nascimento (tais como, mas não limitados a, asfixia neonatal, trauma intracraniano durante o parto, distúrbios

metabólicos ou malformações cerebrais congênitas) ou em consequência de determinantes genéticos.

5 O segundo estágio epileptogênico é conhecido como o estágio de latência. Os métodos da presente invenção incluem administração profilática ou terapêutica de um composto de carbamato da presente invenção ou no primeiro ou no segundo estágio epileptogênico ou precedendo estes estágios para tratar, inibir, prevenir, interromper ou reverter o desenvolvi-

10 O segundo estágio epileptogênico inclui adicionalmente o processo de reestruturação neuronal, a qual se caracteriza por ataques apopléticos recorrentes (por exemplo, epilepsia sintomática) ou por sintomas apresentados em distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos. O processo epileptogênico também pode ser observado entre pessoas sofrendo realmente de epilepsia ou distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos. Por exemplo, ataques apopléticos experimentados por pessoas sofrendo de epilepsia são epileptogênicos se tenderem a provocar a ocorrência de ataques apopléticos subseqüentes mais prováveis.

20 Em uma maneira similar, a reação semelhante a ataque apoplético relacionada em distúrbios neurológicos ou psiquiátricos análogos a epilepsia podem ser tornar cada vez mais grave com o tempo ou resistente a tratamento à medida que o distúrbio amadurece. Os métodos e compostos da presente invenção são pretendidos para serem usados para tratar, prevenir, interromper, inibir ou reverter o processo de epileptogênese em semelhantes distúrbios neurológicos ou psiquiátricos análogos relacionados com

25 ataques apopléticos análogos também.

Em algumas modalidades, epileptogênese fase 1 pode ser iniciada por fatores diferentes dos listados acima, tal como pela ingestão de compostos com potencial epileptogênico, por exemplo, medicações psicotrópicas tais como, por exemplo, antidepressivos tricíclicos, clozapina, e lítio e similares. Os métodos e compostos da presente invenção também são

30 pretendidos para tratar, prevenir, interromper, inibir ou reverter o desenvol-

vimento de epileptogênese a qual tenha sido iniciada por fatores os quais tendem a aumentar o potencial para um sujeito se tornar epileptogênico.

Portanto, ao tratar epileptogênese, os métodos da invenção podem impedir o desenvolvimento de ataques apopléticos, particularmente ataques epiléticos. Os métodos referidos portanto podem ser usados para tratar e prevenir epilepsia e ataques epiléticos, reduzir o risco de desenvolver epilepsia, interromper o desenvolvimento de epilepsia (particularmente, o desenvolvimento de conjuntos de neurônios os quais são a fonte de ou são suscetíveis a ataque apoplético ictogênico), inibir o desenvolvimento e maturação de epilepsia (particularmente, o desenvolvimento de zonas epileptogênicas e foco epileptogênico), reduzir a gravidade da epilepsia em um sujeito e reverter o processo de epileptogênese na epilepsia. Além disso, tratando, prevenindo, inibindo, interrompendo ou revertendo a epileptogênese de acordo com os métodos da presente invenção, o desenvolvimento ou progressão de distúrbios neurológicos e/ou psiquiátricos análogos cuja etiologia é parcial ou totalmente baseada em um mecanismo de ação semelhante a ataque apoplético serão tratados, prevenidos, inibidos, interrompidos ou revertidos.

#### Definições

Conforme usado aqui, o termo "epileptogênese" significa os processos bioquímicos, genéticos, histológicos ou outros processos estruturais ou funcionais ou alterações que tornam o tecido nervoso, incluindo o sistema nervoso central (SNC) suscetível a ataques apopléticos espontâneos e recorrentes. Além disso, o termo "epileptogênese" também é usado aqui em um sentido mais amplo para referir às alterações e processos que contribuem para a progressão clínica observada em algumas epilepsias e o desenvolvimento de "farmacorresistência" na qual epilepsia se torna mais difícil de tratar em consequência de alterações neurobiológicas as quais resultam em reduzida sensibilidade a fármaco.

Além disso o termo "epileptogênese" é usado aqui no sentido mais amplo possível para referir aos fenômenos similares de piora progressiva com o tempo dos sinais e sintomas de distúrbios aparentemente não-

epilépticos, inclusive distúrbios psiquiátricos cuja etiologia aparece estar relacionada com ataque apoplético. Isto pretende incluir, mas não está limitado a, piora ou progressão de, por exemplo: Distúrbio Bipolar com o tempo ou em conseqüência de exposição a antidepressivos ou outros fármacos, conforme demonstrado pelo índice aumentado de alteração, crescente gravidade de episódios, sintomas psicóticos cada vez mais graves e/ou reduzida responsividade a tratamento, e etc.; Distúrbios de Controle de Impulso; Distúrbio Obsessivo-Compulsivo, alguns distúrbios da personalidade, comportamento impulsivo ou agressivo em distúrbios neurodegenerativos ou relacionados.

O termo "inibição de epileptogênese," conforme usado aqui se refere a prevenir, retardar, parar, ou reverter o processo de epileptogênese.

O termo "agente ou fármaco antiepileptogênicos" (AEGD), conforme usado aqui se refere a um agente que é capaz de inibir epileptogênese quando o agente é administrado a um sujeito.

O termo "distúrbio convulsivo," conforme usado aqui se refere a um distúrbio em um sujeito no qual o sujeito sofre de convulsões, por exemplo, convulsões devidas a ataque epilético. Distúrbios convulsivos incluem, mas não estão limitados a, epilepsia e convulsões não epiléticas, por exemplo, convulsões devidas a administração de um agente convulsivo ao sujeito.

Conforme usado aqui, os termos "um ou mais distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos" ou "fenômeno neurológico semelhante a ataque apoplético relacionado com epilepsia" se referem a um distúrbio neurobiológico ou um distúrbio psiquiátrico que podem apresentar pouca ou nenhuma atividade de ataque apoplético patente mas os quais ainda se acredita que sejam total ou parcialmente o resultado de um mecanismo neural semelhante a ataque apoplético ou relacionado e os quais são freqüentemente considerados tratáveis com AEDs. Exemplos de um ou mais distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos incluem, mas não estão limitados a; Distúrbio Bipolar, Distúrbio Esquizoafetivo, distúrbios psicóticos, Distúrbios de Controle de Impulso e o espectro de doen-

ças de distúrbio de controle de impulso relacionadas, distúrbios alimentares tais como Bulimia ou Anorexia Nervosa, Distúrbio Obsessivo-Compulsivo (TOC), distúrbios de abuso de substâncias, e as alterações de personalidade e comportamentais que ocorrem em pacientes com Epilepsia do Lobo Temporal ou em distúrbios primários da personalidade.

Conforme usado aqui o termo "sujeito" inclui um indivíduo ou paciente que ainda não tenha apresentado os sintomas de epilepsia ou distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo mas que podem estar em um grupo de alto risco.

Conforme usado aqui o termo "um sujeito que necessite de tratamento com um AEGD" incluiria um indivíduo que não tem epilepsia ou distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo mas que pode estar em um grupo de alto risco para o desenvolvimento de ataques apopléticos ou um distúrbio relacionado com ataque apoplético devido a lesão ou trauma para o sistema nervoso central ou sistema nervoso periférico ou um. Um indivíduo ou paciente é considerado como estando em alto risco para o desenvolvimento de similares ataques apopléticos ou distúrbios relacionados com ataque apoplético devido a lesão ou trauma do sistema nervoso central ou sistema nervoso periférico, devido a alguma predisposição bioquímica ou genética a epilepsia ou distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo, ou porque um biomarcador verificado ou marcadores substitutos de um ou mais destes distúrbios foi descoberto.

O termo "um sujeito que necessite de tratamento com um AEGD" também incluiria qualquer indivíduo cuja condição clínica ou prognóstico pode se beneficiar de tratamento com um AEGD. Isto incluiria, e não está limitado a, qualquer indivíduo determinado como estando em um risco aumentada para desenvolver epilepsia, um distúrbio de ataque apoplético ou distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo ou fenômeno neurológico semelhante a ataque apoplético relacionado com epilepsia ou distúrbio relacionado com ataque apoplético conforme definido acima, devido a qualquer fator predisponente. Fatores predisponentes incluem, mas não estão limitados a: lesão ou trauma de qualquer tipo do sistema nervoso central;

infecções do sistema nervoso central, por exemplo, meningite ou encefalite; anoxia; derrame, isto é, acidentes vasculares cerebrais (AVCs); doenças auto-imunes afetando o sistema nervoso central, por exemplo, lúpus; toco-traumatismos, por exemplo, asfixia perinatal; parada cardíaca; procedimentos cirúrgicos vasculares terapêuticos ou diagnósticos, por exemplo, endarterectomia da carótida ou angiografia cerebral; cirurgia de bypass cardíaco; trauma da medula espinhal; hipotensão; lesão do sistema nervoso central por êmbolos, hiper ou hipo perfusão do sistema nervoso central; hipoxia afetando o sistema nervoso central; predisposição genética conhecida para distúrbios que se sabe que respondem a AEGDs; lesões ocupando o espaço do sistema nervoso central; tumores cerebrais, por exemplo, glioblastomas; sangramento ou hemorragia no ou em torno do sistema nervoso central, por exemplo, sangramentos intracerebrais ou hematomas subdurais; edema cerebral; convulsões febris; hipertermia; exposição a agentes tóxicos ou venenosos; intoxicação por fármacos, por exemplo cocaína; histórico familiar de distúrbios de ataques apopléticos ou distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo, histórico de estado epilético; tratamento atual com medicações que reduzem o princípio do ataque, por exemplo, carbonato de lítio, torazina ou clozapina; evidência de marcadores substitutos ou biomarcadores que o paciente necessita de tratamento com um fármaco antiepileptogênicos, por exemplo varredura por MRI apresentando esclerose hipocampal ou outra patologia do sistema nervoso central, níveis séricos elevados de produtos de degradação neuronal.

Além disso, o termo "um sujeito que necessite de tratamento com um AEGD" também se referiria a qualquer indivíduo com um histórico de ou o qual atualmente tem; epilepsia, um distúrbio de ataque apoplético ou um fenômeno neurológico semelhante a ataque apoplético relacionado com epilepsia análogo ou distúrbio relacionado com ataque apoplético, conforme definido acima, ou qualquer distúrbio no qual a condição clínica ou prognóstico presente do paciente pode se beneficiar da supressão ou inibição do processo de epileptogênese para prevenir a extensão, progressão ou aumento da resistência a tratamento de qualquer distúrbio neurológico ou

psiquiátrico.

O termo "fármaco antiepiléptico" (AED) será usado de modo intercambiável com o termo "agente anticonvulsivante, " e conforme usado aqui ambos os termos se referem a um agente capaz de inibir (por exemplo, 5 prevenir, retardar, parar, ou reverter) atividade de ataque apoplético ou ictogênese quando o agente é administrado a um sujeito ou paciente.

O termo "farmacóforo" é conhecido na técnica, e, conforme usado aqui se refere a uma porção molecular capaz de exercer um efeito bioquímico selecionado, por exemplo, inibição de uma enzima, ligação a um 10 receptor, quelação de um íon, e similares. Um farmacóforo selecionado pode ter mais de um efeito bioquímico, por exemplo, pode ser um inibidor de uma enzima e um agonista de uma segunda enzima. Um agente terapêutico pode incluir um ou mais farmacóforo, os quais podem ter as mesmas atividades bioquímicas ou diferentes atividades bioquímicas.

O termo "tratar" ou "tratamento" conforme usado aqui se refere a 15 ações que causam quaisquer indícios de sucesso na prevenção ou melhora de uma lesão, patologia, sintomas ou condição, incluindo quaisquer parâmetros objetivos ou subjetivos tais como declínio; remissão; diminuição de sintomas ou torar a lesão, patologia, ou condição mais tolerável pelo paciente; 20 retardando o índice de degeneração ou declínio; tornando o ponto final de degeneração menos debilitante; ou melhorando o bem-estar físico ou mental de um sujeito.

Portanto o termo "tratamento" ou "tratar" pretende incluir qualquer ação que melhora, previne, reverte, interrompe, ou inibe o processo 25 patológico de epileptogênese, como este termo é definido e usado aqui, neste requerimento de patente. O tratamento ou melhora de sintomas pode ser baseada em parâmetros objetivos ou subjetivos; incluindo os resultados de um exame físico, exame neurológico, e/ou avaliações psiquiátricas.

Por conseguinte, o termo "tratar" ou "tratamento" inclui a administração dos compostos ou agentes da presente invenção para tratar, 30 prevenir, reverter, interromper, ou inibir o processo de epileptogênese. Em alguns casos, tratamento com os compostos da presente invenção previnirá,

inibirá, ou interromperá a progressão da disfunção cerebral ou hiperexcitabilidade cerebral associada com epilepsia.

O termo "efeito terapêutico" conforme usado aqui se refere ao tratamento, inibição, declínio, reversão, ou prevenção de epileptogênese, sintomas de epileptogênese, ou efeitos colaterais de epileptogênese em um  
5 sujeito.

O termo "uma quantidade terapeuticamente eficaz" conforme usado aqui significa uma quantidade suficiente de um ou mais dos compostos da invenção para produzir um efeito terapêutico, conforme definido acima, em um sujeito ou paciente que necessite de similar tratamento, inibição, declínio, reversão, ou prevenção de epileptogênese, sintomas de epileptogênese, ou efeitos colaterais de epileptogênese.  
10

Os termos "sujeito" ou "paciente" são usados aqui de modo intercambiável e conforme usados aqui significam qualquer sujeito mamífero ou paciente aos quais as composições da invenção podem ser administra-  
15 das. O termo mamíferos incluem pacientes humanos e primatas não-humanos, bem como animais experimentais tais como coelhos, ratos, e camundongos, e outros animais.

Em algumas modalidades os métodos da presente invenção serão usados vantajosamente para tratar um paciente que não está sofrendo ou que se sabe que esteja sofrendo de uma condição que é conhecida na técnica como sendo tratada de modo eficaz com compostos de carbamato ou AED's conhecidos atualmente incluindo um ou mais distúrbios relaciona-  
20 dos com ataques apopléticos análogos. Nestes casos a decisão de usar o métodos e compostos da presente invenção seria feita com base na determinação se o paciente é um "paciente que necessite de tratamento com um  
25 fármaco antiepileptogênicos (AEGD)" conforme este termo é definido acima.

Em algumas modalidades esta invenção proporciona métodos para tratar, prevenir, reverter, interromper ou inibir a epileptogênese. Em algumas modalidades, estes métodos compreendem administrar uma quan-  
30 tidade terapeuticamente eficaz de um composto de carbamato a um paciente que ainda não desenvolveu epilepsia clínica patente ou um distúrbio rela-

5 cionado com ataque apoplético mas que pode estar em um grupo de alto risco para o desenvolvimento de ataques apopléticos ou um distúrbio relacionado com ataque apoplético devido a lesão ou trauma do sistema nervoso ou devido a alguma predisposição conhecida quer bioquímica ou genética ou ao achado de um biomarcador verificado de um ou mais destes distúrbios.

10 Portanto, em algumas modalidades, o métodos e composições da presente invenção são dirigidos para tratar epileptogênese em um sujeito que esteja em risco de desenvolver epilepsia ou um distúrbio relacionado com ataque apoplético ou distúrbio(s) relacionado(s) com ataques apopléticos análogos mas que ainda não desenvolveu epilepsia ou evidência clínica de ataques apopléticos. Um sujeito que esteja em risco de desenvolver epilepsia ou distúrbio(s) relacionado(s) com ataques apopléticos análogos mas que ainda não desenvolveu ou distúrbio(s) relacionado(s) com ataques apopléticos análogos pode ser um sujeito que ainda não tenha sido diagnosticado com epilepsia ou distúrbio(s) relacionado(s) com ataques apopléticos análogos mas que esteja em maior risco do que a população geral para desenvolver epilepsia ou um ou mais distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos. Este "maior risco" pode ser determinado pelo reconhecimento de qualquer fator em um ou mais sujeitos, ou suas famílias, histórico médico, exame físico ou experimentação que seja indicativo de um risco maior do que a média para desenvolver epilepsia ou um ou mais distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos. Portanto esta determinação de que um paciente pode estar em um "maior risco" por quaisquer meios disponíveis pode ser usada para determinar se o paciente deve ser tratado com os métodos da presente invenção.

25 Por conseguinte, em algumas modalidades típicas, sujeitos que podem se beneficiar de tratamento pelos métodos e compostos desta invenção podem ser identificados usando métodos de triagem aceitos para determinar fatores de risco associados com epileptogênese. Estes métodos de triagem incluem, por exemplo, elaborações convencionais para determinar fatores de risco que podem estar associados com epileptogênese incluindo

mas não-limitados a:, por exemplo, trauma de cabeça, quer fechado ou penetrante, infecções do sistema nervoso central, doença cerebrovascular bacteriana ou viral, incluindo mas não-limitada a derrame, tumores cerebrais, edema cerebral, cisticercose, porfiria, encefalopatia metabólica, retirada de fármaco incluindo mas não-limitada a retirada de sedativo-hipnótico ou de álcool, histórico perinatal anormal incluindo anoxia no parto ou toco-traumatismo de qualquer tipo, paralisia cerebral, deficiências de aprendizado, hiperatividade, histórico de convulsões febris na infância, histórico de estado epiléptico, histórico familiar de epilepsia ou qualquer distúrbio relacionado com ataque apoplético, doença inflamatória do cérebro incluindo lupis, intoxicação por fármaco quer direta ou por transferência placentária, incluindo mas não-limitada a envenenamento por cocaína, consangüinidade parental, e tratamento com medicações que reduzem o princípio do ataque incluindo medicações psicotrópicas.

15                   Em algumas modalidades os compostos da presente invenção seriam usados para a fabricação de um medicamento para o fim de tratar um paciente que necessite de tratamento com um fármaco antiepiléptogênicos (AEGD). Isto incluiria a fabricação de um medicamento para o fim de tratar um paciente o qual atualmente teve ou esteve em risco de desenvolver; epilepsia, um distúrbio de ataque apoplético ou distúrbio(s) relacionados com ataques apopléticos análogos ou fenômeno neurológico semelhante a ataque apoplético relacionado com epilepsia ou distúrbio relacionado com ataque apoplético, conforme definido acima, ou qualquer distúrbio no qual a condição clínica ou prognóstico presente do paciente pode se beneficiar da supressão ou inibição do processo da epileptogênese para prevenir a extensão, piora ou aumento da resistência a tratamento de qualquer distúrbio neurológico ou psiquiátrico.

30                   A determinação de quais pacientes podem ser beneficiar de tratamento com um AEGD em pacientes que não têm sinais clínicos ou sintomas de epilepsia ou distúrbios relacionados pode se basear em uma variedade de "marcadores substitutos" ou "biomarcadores".

Conforme usado aqui os termos "marcador substituto" e "bio-

marcador" são usados de modo intercambiável e se referem a qualquer indicador ou marcador anatômico, bioquímico, estrutural, elétrico, genético ou químico que pode ser correlacionado com segurança com a presente existência ou o futuro desenvolvimento de um ataque apoplético ou distúrbio relacionado com ataque apoplético. Em alguns casos, técnicas de estudo por imagens do cérebro, tais como tomografia computadorizada (CT), estudo por imagens de ressonância magnética (MRI) ou tomografia de emissão de pósitrons (PET), podem ser usadas para determinar se um sujeito está em risco de desenvolver epilepsia ou um distúrbio relacionado com ataque apoplético.

Os biomarcadores adequados para os métodos desta invenção incluem, mas não estão limitados a: a determinação por MRI, CT ou outras técnicas de estudo por imagens, de esclerose, atrofia ou perda do volume no hipocampo ou esclerose mesial temporal patente (MTS) ou patologia anatômica relevante similar; a detecção no sangue, soro ou tecidos do paciente de uma espécie molecular tal como uma proteína ou outro biomarcador bioquímico, por exemplo, níveis elevados de fator neurotrófico ciliar (CNTF) ou níveis séricos elevados de um produto de degradação neuronal; ou outra evidência de marcadores substitutos ou biomarcadores de que o paciente necessita de tratamento com um fármaco antiepiléptogênicos, por exemplo, um EEG sugestivo de um distúrbio de ataque apoplético ou distúrbio(s) relacionado(s) com ataques apopléticos análogos, fenômeno neurológico ou distúrbio relacionado com ataque apoplético semelhante a ataque apoplético relacionado com epilepsia.

Espera-se que muito mais destes biomarcadores utilizando uma ampla variedade de técnicas de detecção serão desenvolvidos no futuro. Pretende-se que qualquer marcador referido ou indicador da existência ou possível desenvolvimento futuro de um distúrbio de ataque apoplético ou distúrbio relacionado com ataque apoplético, como o último termo é usado aqui possam ser usados nos métodos desta invenção para determinar a necessidade de tratamento com os compostos e métodos desta invenção.

Uma determinação de que um sujeito tem, ou pode estar em

risco para desenvolver, epilepsia ou um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo também incluiria, por exemplo, uma avaliação médica que inclui um histórico completo, um exame físico, e uma série de testes sangüíneos relevantes. Também pode incluir um eletroencefalograma (E-  
5 EG), CT, MRI ou PET scan. Uma determinação um risco aumentado para desenvolver um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo também pode ser feita por meio de teste genético, incluindo técnicas proteômicas ou traçado do perfil da expressão genética. (Vide, Schmidt, D. Rogawski, M. A. *Epilepsy Research* 50; 71-78 (2002), e Loscher, W, Schmidt D. *Epilepsy Research* 50; 3-16 (2002))  
10

Para distúrbios psiquiátrico que podem ser "distúrbios relacionados com ataques apopléticos análogos", por exemplo, Distúrbio Bipolar, Distúrbios de Controle de Impulso, e etc. os testes acima também podem incluir um exame do estado presente e um histórico detalhado do curso dos sintomas dos pacientes tais como sintomas de distúrbio de humor e sintomas psicóticos durante o tempo e em relação a outros tratamentos que o paciente pode ter recebido durante o tempo, por exemplo, um diagrama vital. Estes e outros métodos especializados e de rotina permitirão ao clínico selecionar pacientes que necessitem de terapia usando os métodos e formulações desta invenção.  
15  
20

Em algumas modalidades da presente invenção compostos de carbamato adequados para uso na prática desta invenção serão administrados ou única ou concomitantemente com no mínimo um ou mais outros compostos ou agentes terapêuticos, por exemplo, com outros fármacos antiepiléticos, fármacos anticonvulsivos ou fármacos neuroprotetivos ou terapia eletroconvulsiva (ECT). Nestas modalidades, a presente invenção proporciona métodos para tratar, prevenir ou reverter epileptogênese em um paciente. O método inclui a etapa de administrar a um paciente que necessite de tratamento, uma quantidade eficaz de um dos compostos de carbamato descritos aqui em combinação com uma quantidade eficaz de um ou mais outros compostos ou agentes terapêuticos que têm a capacidade para tratar ou prevenir epileptogênese ou a capacidade para aumentar os efeitos antie-  
25  
30

pilépticos ou neuroprotetivos dos compostos da invenção.

Conforme usado aqui o termo "administração concomitante" ou "administração de combinação" de um composto, agente terapêutico ou fármaco conhecido com um composto da presente invenção significa administração do fármaco e do um ou mais compostos em um tempo semelhante que tanto o fármaco conhecido quanto o composto terão um efeito terapêutico. Em alguns casos este efeito terapêutico será sinérgico. A administração concomitante referida pode envolver administração concorrente (isto é, ao mesmo tempo), antes de, ou subsequente do fármaco com respeito à administração de um composto da presente invenção. Uma pessoa de conhecimento regular da técnica não teria dificuldade para determinar o apropriado momento, seqüência e dosagens de administração para compostos e fármacos particulares da presente invenção.

Os um ou mais outros compostos referidos ou agentes terapêuticos podem ser selecionados entre compostos que têm uma ou mais das seguintes propriedades: atividade antioxidante; atividade antagonista de receptores de NMDA, aumento da inibição de GABA endógeno; atividade inibitória da NO sintase; capacidade de ligação de ferro, por exemplo, um quelador de ferro; capacidade de ligação de cálcio, por exemplo, um quelador de Ca (II); capacidade de ligação de zinco, por exemplo, um quelador de Zn (II); a capacidade para bloquear de modo eficaz canais de íons sódio ou cálcio, ou para abrir canais de íons potássio ou cloreto no sistema nervoso central de um paciente, de tal modo que seja inibida epileptogênese no paciente.

Em algumas modalidades preferenciais, o um ou mais outros compostos ou agentes terapêuticos antagonizariam receptores de NMDA por ligação aos receptores de NMDA (por exemplo, por ligação ao sítio de ligação de glicina dos receptores de NMDA) e/ou o agente aumentaria a inibição de GABA reduzindo a captação de GABA glial.

Além do um ou mais outros compostos ou agentes terapêuticos referidos pode haver qualquer agente conhecido por suprimir atividade de ataque apoplético mesmo se não se souber se o composto inibe epileptogênese. Os agentes referidos incluiriam mas não seriam limitados a qualquer

AED eficaz conhecido de uma pessoa versada na técnica ou descoberto no futuro, por exemplo agentes adequados incluem, mas não estão limitados a; carbamazepina, clobazam, clonazepam, etossuximida, felbamato, gabapentina, lamotigina, levetiracetam, oxcarbazepina, fenobarbital, fenitoína, pregabalina, primidona, retigabina, talampanel, tiagabina, topiramate, valproato, vigabatrin, zonisamida, benzodiazepinas, barbituratos ou sedativos hipnóticos.

Em algumas modalidades da presente invenção, o tratamento seria dirigido a pacientes que tiveram epilepsia ou um fenômeno neurológico semelhante a ataque apoplético relacionado com epilepsia ou um distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo, conforme definido acima, e levando em conta a capacidade dos compostos da presente invenção para reverter epileptogênese permitiriam a redução gradual nas dosagens da medicação de manutenção ou na intensidade do tratamento caso sendo usado para controlar as manifestações clínicas da epilepsia do paciente ou fenômeno neurológico semelhante a ataque apoplético relacionado com epilepsia ou distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo, conforme definido acima.

Portanto, à medida que o tratamento com os compostos da invenção produziram melhora no distúrbio subjacente o paciente pode ser retirado de sua medicação de manutenção incluindo mas não-limitada aos próprios compostos da presente invenção caso eles estiverem sendo usados como única terapia. Deste modo, um paciente com epilepsia em uma terapia de manutenção de um AED convencional pode ser retirado do AED depois do tratamento com um ou mais dos compostos da presente invenção terem revertidos o distúrbio epilético subjacente. Além disso, um paciente com um fenômeno neurológico semelhante a ataque apoplético relacionado com epilepsia ou distúrbio relacionado com ataque apoplético análogo, conforme definido acima, incluindo mas não limitado a, por exemplo, Distúrbio Bipolar, pode ter reduzidas suas medicações de manutenção, por exemplo, carbonato de lítio, à medida que o tratamento com um ou mais dos referidos compostos progride. Igualmente se um ou mais dos referidos compostos estive-

rem sendo usados como única terapia a dose deste composto pode ser reduzida até zero com o tempo.

Uma pessoa versada na técnica determinaria qual rapidez para conduzir a redução com base em sinais clínicos e sintomas incluindo EEG's, manifestação de ataques apopléticos ou outros biomarcadores apropriados do distúrbio subjacente.

#### Compostos de Carbamato como Farmacêuticos:

A presente invenção proporciona misturas enantioméricas e enantiômeros isolados de Fórmula 1 e/ou Fórmula 2 como farmacêuticos. Os compostos de carbamato são formulados como farmacêuticos para tratar epileptogênese, por exemplo, para prevenir, inibir, reverter, ou interromper o desenvolvimento de epilepsia em um sujeito.

Em geral, os compostos de carbamato da presente invenção podem ser administrados como composições farmacêuticas por qualquer método conhecido na técnica para administrar fármacos terapêuticos incluindo oral, bucal, tópico, sistêmico (por exemplo, transdérmico, intranasal, ou por supositório), ou parenteral (por exemplo, injeção intramuscular, subcutâneo, ou intravenosa.) A administração dos compostos diretamente no sistema nervoso pode incluir, por exemplo, administração em vias de administração intracerebral, intraventricular, intacerebroventricular, intratecal, intracisternal, intra-espinal ou peri-espinal por liberação através de agulhas ou cateteres intracraniais ou intravertebrais com ou sem dispositivos de êmbolo.

As composições podem tomar a forma de comprimidos, pílulas, cápsulas, semi-sólidos, pós, formulações de liberação gradual, soluções, suspensões, emulsões, xaropes, elixires, aerossóis, ou quaisquer outras composições apropriadas; e compreendem no mínimo um composto desta invenção em combinação com no mínimo um excipiente farmacêuticamente aceitável. Excipientes adequados são de conhecimento geral dos versados na técnica, e estes, e os métodos para formular as composições, podem ser encontrados em semelhantes referências de rotina como Alfonso AR: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton PA, 1985, cuja descrição é incorporada aqui, por meio de referência

em sua totalidade e para todos os fins. Veículos líquidos adequados, especialmente para soluções injetáveis, incluem água, solução salina aquosa, solução aquosa de dextrose, e glicóis.

Os compostos de carbamato podem ser proporcionados como suspensões aquosas. As suspensões aquosas da invenção podem conter um composto de carbamato em mistura com excipientes adequados para a fabricação de suspensões aquosas. Os excipientes referidos podem incluir, por exemplo, um agente de suspensão, tal como carboximetilcelulose de sódio, metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, alginato de sódio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto e goma acácia, e agentes dispersantes ou umectantes tais como uma fosfatida que ocorre naturalmente (por exemplo, lecitina), um produto de condensação de um óxido de alquilenos com um ácido graxo (por exemplo, estearato de polioxietileno), um produto de condensação de óxido de etileno com um álcool alifático de cadeia longa (por exemplo, heptadecaetileno oxietanol), um produto de condensação de óxido de etileno com um éster parcial derivado de um ácido graxo e um hexitol (por exemplo, monooleato de sorbitol de polioxietileno), ou um produto de condensação de óxido de etileno com um éster parcial derivado de ácido graxo e um anidrido de hexitol (por exemplo, monooleato de sorbitano de polioxietileno).

A suspensão aquosa também pode conter um ou mais preservantes tais como p-hidroxibenzoato de etila ou n-propila, um ou mais agentes colorantes, um ou mais agentes flavorizantes, e um ou mais agentes adoçantes, tais como sucrose, aspartame ou sacarina. As formulações podem ser ajustadas para osmolaridade.

Suspensões de óleo para uso nos presentes métodos podem ser formuladas suspendendo um composto de carbamato em um óleo vegetal, tal como óleo de amendoim, azeite de oliva, óleo de gergelim ou óleo de coco, ou em um óleo mineral tal como parafina líquida; ou uma mistura destes. As suspensões de óleo podem conter um agente espessante, tal como cera de abelhas, parafina dura ou álcool cetílico. Agentes adoçantes podem ser adicionados para proporcionar uma preparação oral palatável, tal como

glicerol, sorbitol ou sucrose. Estas formulações podem ser preservadas pela adição de um antioxidante tal como ácido ascórbico. Como um exemplo de um veículo de óleo injetável, vide Minto, J. Pharmacol. Exp. Ther. 281:93-102, 1997. As formulações farmacêuticas da invenção também pode estar  
5 sob a forma de emulsões de óleo-em-água. A fase oleosa pode ser um óleo vegetal ou um óleo mineral, descritos acima, ou uma mistura destes.

Agentes emulsificantes adequados incluem gomas que ocorrem naturalmente, tais como goma acácia e goma tragacanto, fosfatidas que ocorrem naturalmente, tais como lecitina de soja, ésteres de ésteres parciais  
10 derivados de ácidos graxos e anidridos de hexitol, tais como mono-oleato de sorbitano, e produtos de condensação destes ésteres parciais com óxido de etileno, tais como mono-oleato de sorbitano de polioxietileno. A emulsão pode conter agentes adoçantes e agentes flavorizantes, como na formulação de xaropes e elixires. As formulações referidas também podem conter  
15 um demulcente, um conservante, ou um agente colorante.

O composto de escolha, sozinho ou em combinação com outros componentes adequados, pode ser preparado em formulações de aerossol (isto é, podem ser "nebulizadas") para serem administrados através de inalação. Formulações de aerossol podem ser colocadas em propelentes aceitáveis pressurizados, tais como diclorodifluorometano, propano, nitrogênio, e  
20 similares.

Formulações da presente invenção adequadas para administração parenteral, tais como, por exemplo, por vias intra-articular (nas articulações), intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, e subcutânea, podem incluir soluções de injeções estéreis isotônicas aquosas e não-aquosas, as quais podem conter antioxidantes, tampões, bacteriostatos, e solutos que tornam a formulação isotônica com o sangue do receptor pretendido, e suspensões estéreis aquosas e não aquosas que podem incluir  
25 agentes de suspensão, solubilizantes, agentes espessantes, estabilizantes, e preservantes. Entre os veículos e solventes aceitáveis que podem ser empregados estão água e solução de Ringer, um cloreto de sódio isotônico. Além disso, óleos fixos estéreis podem ser empregados convencionalmente  
30

como um solvente ou meio de suspensão. Para este fim pode ser empregado qualquer óleo fixo brando incluindo mono- ou diglicerídeos sintéticos. Além disso, ácidos graxos tais como ácido oléico pode ser usado igualmente na preparação de injetáveis. Estas soluções são estéreis e geralmente livres de substância indesejável.

5 Onde os compostos são suficientemente solúveis podem ser dissolvidos diretamente em solução salina normal com ou sem o uso de solventes orgânicos adequados, tais como propileno glicol ou polietileno glicol. Dispersões dos compostos finamente divididos podem ser compostas em amido aquoso ou solução de carboximetil celulose de sódio, ou em óleo adequado, tal como óleo de araquis. Estas formulações podem ser esterilizadas por técnicas de esterilização convencionais, de conhecimento geral. As formulações podem conter substâncias auxiliares farmacologicamente aceitáveis conforme requerido para aproximar de condições fisiológicas tais como ajuste de pH e agentes de tamponamento, agentes de ajuste da toxicidade, por exemplo, acetato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio, lactato de sódio e similares.

10 A concentração de um composto de carbamato nestas formulações pode variar amplamente, e será selecionada essencialmente com base em volumes de fluidos, viscosidades, peso corporal, e similares, de acordo com o modo de administração particular selecionado e as necessidades dos pacientes. Para administração IV, a formulação pode ser uma preparação injetável estéril, tal como uma suspensão injetável estéril aquosa ou oleaginosa. Esta suspensão pode ser formulada de acordo com a técnica conhecida usando os agentes dispersantes ou umectantes e agentes de suspensão adequados. A preparação injetável estéril também pode ser uma solução ou suspensão injetável estéril em alguns diluentes não-tóxicos aceitáveis por via parenteral ou solvente, tal como uma solução de 1, 3-butanodiol. As formulações recomendadas podem ser apresentadas em recipientes selados de dose unitária ou multidoses, tais como ampolas e frascos. Soluções e suspensões de injeção podem ser preparadas a partir de pós estéreis, grânulos, e comprimidos do tipo previamente descrito.

Um composto de carbamato adequado para uso na prática desta invenção pode ser e é preferencialmente administrado por via oral. A quantidade de um composto da presente invenção na composição pode variar amplamente dependendo do tipo de composição, tamanho de uma dosagem unitária, tipo de excipientes, e outros fatores de conhecimento geral daqueles ordinariamente versados na técnica. Em geral, a composição final pode compreender, por exemplo, de 0,000001 por cento em peso (% em peso) a 10 por cento em peso do composto de carbamato, preferencialmente 0,00001 por cento em peso a 1 por cento em peso, com o restante sendo o excipiente ou excipientes.

Formulações farmacêuticas para administração oral podem ser formuladas usando veículos farmacêuticamente aceitáveis de conhecimento geral na técnica em dosagens adequadas para administração oral. Os veículos referidos permitem que as farmacêuticas formulações sejam formuladas em formas de dosagens unitárias como comprimidos, pílulas, pós, drágeas, cápsulas, líquidos, pastilhas, géis, xaropes, pastas fluida, suspensões, e etc. adequadas para ingestão pelo paciente.

Formulações adequadas para administração oral podem consistir de (a) soluções líquidas, tais como uma quantidade eficaz do ácido nucleico acondicionado suspenso em diluentes, tais como água, solução salina ou PEG 400; (b) cápsulas, sachês ou comprimidos, cada um contendo uma quantidade predeterminada do ingrediente ativo, como líquidos, sólidos, grânulos ou gelatina; (c) suspensões em um líquido apropriado; e (d) emulsões adequadas.

Preparações farmacêuticas para uso oral podem ser obtidas através de combinação dos compostos da presente invenção com um excipiente sólido, opcionalmente triturando uma mistura resultante, e processando a mistura de grânulos, depois de adicionar compostos adicionais adequados, caso desejado, para obter comprimidos ou núcleos de drágeas. Excipientes sólidos adequados são agentes de enchimentos de proteína ou carboidrato e incluem, mas não estão limitados a açúcares, incluindo lactose, sucrose, manitol, ou sorbitol; amido de milho, trigo, arroz, batata, ou outras

plantas; celulose tal como metil celulose, hidroximetil celulose, hidroxipropilmetil-celulose ou carboximetilcelulose de sódio; e gomas incluindo arábica e tragacanto; bem como proteínas tais como gelatina e colágeno. Caso desejado, agentes desintegrantes ou solubilizantes podem ser adicionados, tais como a polivinil pirrolidona reticulada, ágar, ácido algínico, ou um sal do mesmo, tal como alginato de sódio. Formas de comprimidos podem incluir um ou mais entre lactose, sucrose, manitol, sorbitol, fosfatos de cálcio, amido de milho, amido de batata, celulose microcristalina, gelatina, dióxido de silício coloidal, talco, estearato de magnésio, ácido esteárico, e outros excipientes, colorantes, agentes de enchimentos, aglutinantes, diluentes, agentes de tamponamento, agentes umidificantes, preservantes, agentes flavorizantes, corantes, agentes desintegrantes, e veículos farmacologicamente compatíveis. Formas de pastilhas podem compreender o ingrediente ativo em um aroma, por exemplo, sucrose, bem como pastilhas compreendendo o ingrediente ativo em uma base inerte, tal como gelatina e glicerina ou sucrose e emulsões de acácia, géis, e similares contendo, além do ingrediente ativo, veículos conhecidos na técnica.

Os compostos da presente invenção também podem ser administrados sob a forma de supositórios para administração retal do fármaco. Estas formulações podem ser preparadas misturando o fármaco com um excipiente não irritante adequado que é sólido em temperaturas ordinárias mas líquido nas temperaturas retais e portanto fundirão dentro do reto para liberar o fármaco. Os materiais referidos são manteiga de cacau e polietileno glicóis.

Os compostos da presente invenção também podem ser administrados por vias intranasal, intra-ocular, intravaginal, e intra-retal incluindo formulações de supositórios, para insuflação, pós e aerossol (para exemplos de esteróides inalantes, vide Rohatagi, J. Clin. Pharmacol. 35:1187-1193, 1995; Tjwa, Ann. Allergy Asthma Immunol. 75:107-111, 1995).

Os compostos da presente invenção podem ser liberados por via transdérmica, por uma via tópica, formulados como bastões aplicadores, soluções, suspensões, emulsões, géis, cremes, pomadas, pastas, geléias,

tintas, pós, e aerossóis.

Materiais de encapsulação também podem ser empregados com os compostos da presente invenção e o termo "composição" pode incluir o ingrediente ativo em combinação com um material de encapsulação como uma formulação, com ou sem outros veículos. Por exemplo, os compostos da presente invenção também pode ser liberado como microesferas para liberação lenta no corpo. Em uma modalidade, microesferas podem ser administradas através de injeção intradérmica de microesferas contendo fármaco (por exemplo, mifepristona), as quais liberam lentamente por via subcutânea (vide Rao, J. Biomater Sci. Polym. Ed. 7:623-645, 1995; como formulações de gel biodegradável e injetável (vide, por exemplo, Gao, Pharm. Res. 12:857-863, 1995); ou, como microesferas para administração oral (vide, por exemplo, Eyles, J. Pharm. Pharmacol. 49:669-674, 1997). Tanto as vias transdérmica quanto intradérmica proporcionam liberação constante por semanas ou meses. Também podem ser usados cápsulas na liberação dos compostos da presente invenção.

Em outra modalidade, os compostos da presente invenção podem ser liberados pelo uso de lipossomas os quais fundem com a membrana celular ou são endocitosados, isto é, empregando ligantes fixados ao lipossoma que ligam a receptores de proteína da membrana superficial da célula resultando em endocitose. Usando lipossomas, particularmente onde os ligantes de veículos superficiais de lipossoma específicos para células-alvo, ou são de pode-se focalizar a liberação do composto de carbamato em células-alvo in vivo. (Vide, por exemplo, Al-Muhammed, J. Microencapsul. 13:293-306, 1996; Chonn, Curr. Opin. Biotechnol. 6:698-708, 1995; Ostro, Am. J. Hosp. Pharm. 46:1576-1587, 1989).

As farmacêuticas formulações da invenção podem ser proporcionadas como um sal e podem ser formadas com muitos ácidos, incluindo mas não-limitadas a clorídrico, sulfúrico, acético, láctico, tartárico, málico, succínico, e etc. Sais tendem a ser mais solúveis em solventes aquosos ou outros protônicos que são as formas de base livre correspondentes. Em outros casos, a preparação preferencial pode ser um pó liofilizado o qual pode

conter, por exemplo, qualquer um ou todos os seguintes: 1 mM a 50 mM de histidina, 0,1% a 2% de sucrose, 2% a 7% de manitol, em uma faixa de pH de 4,5 a 5,5, que é combinada com tampão antes do uso.

Sais e ésteres farmacologicamente aceitáveis se refere a sais e ésteres que são farmacologicamente aceitáveis e têm as propriedades farmacológicas desejadas. Os sais referidos incluem sais que podem ser formados onde prótons acidíferos presentes nos compostos são capazes de reagir com bases inorgânicas ou orgânicas. Sais inorgânicos adequados incluem os formados com os metais de álcali, por exemplo sódio e potássio, magnésio, cálcio, e alumínio. Sais orgânicos adequados incluem os formados com bases orgânicas tais como as bases de amina, por exemplo etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N metilglucamina, e similares. Sais farmacologicamente aceitáveis também podem incluir sais de adição de ácido formados da reação de porções amina no composto de origem com ácidos inorgânicos (por exemplo, ácidos clorídrico e bromídrico) e ácidos orgânicos (por exemplo, ácido acético, ácido cítrico, ácido maléico, e os ácidos alcano- e areno-sulfônicos tais como ácido metanossulfônico e ácido benzenossulfônico). Ésteres farmacologicamente aceitáveis incluem ésteres formados de grupos carbóxi, sulfonilóxi, e fosfonóxi presentes nos compostos. Quando há dois grupos acidíferos presentes, um sal ou éster farmacologicamente aceitável pode ser um monoácido-monossal ou éster ou um dissal ou éster; e similarmente onde há mais de dois grupos acidíferos presentes, alguns ou todos os grupos referidos podem ser salificados ou esterificados.

Compostos nomeados nesta invenção podem estar presentes em forma não-salificada ou não-esterificada, ou em forma salificada e/ou esterificada, e a denominação de similares compostos é pretendida para incluir tanto o composto original (não-salificado e não-esterificado) e seus sais e ésteres farmacologicamente aceitáveis. A presente invenção inclui formas de sais e ésteres farmacologicamente aceitáveis de Fórmula 1 e Fórmula 2. Pode existir mais de uma forma de cristal de um enantiômero de Fórmula 1 ou Fórmula 2 e deste modo também são incluídas na presente

invenção.

Uma composição farmacêutica da invenção pode conter opcionalmente, além de um composto de carbamato, no mínimo um agente terapêutico diverso útil no tratamento de uma doença ou condição associada com epileptogênese.

Métodos para formular composições farmacêuticas foram descritos em numerosas publicações tais como Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets. Second Edition. Revised and Expanded. Volumes 1-3, editada pela Lieberman et al; Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications. Volumes 1-2, editada pela Avis et al; and Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems. Volumes 1-2, editada pela Lieberman et al; publicada por Marcel Dekker, Inc, cujas descrições são aqui, incorporadas por meio de referência em suas totalidades e para todos os fins.

As composições farmacêuticas são geralmente formuladas como estéreis, substancialmente isotônicas e em total concordância com todas as regulamentações da boa prática de fabricação (GMP, Good Manufacturing Practice) da agência FDA (U.S. Food and Drug Administration).

#### Regimes de Dosagem

A presente invenção proporciona métodos para tratar epileptogênese em um mamífero usando compostos de carbamato. A quantidade do composto de carbamato necessária para tratar uma epileptogênese é definida como uma dose terapêuticamente ou uma dose farmacologicamente eficaz. O esquema de dosagem e quantidades eficazes para este uso, isto é, a dosagem ou regime de dosagem dependerão de uma variedade de fatores incluindo o estágio da doença, o estado físico do paciente, a idade e similares. Ao calcular o regime de dosagem para um paciente, também é levado em conta o modo de administração.

Uma pessoa versada na técnica será capaz sem indevida experimentação, tendo em conta este conhecimento e esta descoberta, de determinar uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto de carbamato substituído particular para prática desta invenção (vide, por exemplo, Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms(Vols. 1-3, 1992); Lloyd,

1999, The art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding; e Pickar, 1999, Dosage Calculations). Uma dose terapeuticamente eficaz também é uma dose na qual quaisquer efeitos colaterais tóxicos ou prejudiciais do agente ativo é superado em termos clínicos por efeitos terapeuticamente benéficos. Deve ser adicionalmente observado que para cada sujeito em particular, regimes de dosagem específicos devem ser avaliados e ajustados com o tempo de acordo com a necessidade individual e o critério profissional da pessoa administrando ou supervisionando a administração dos compostos.

10 Para fins de tratamento, as composições ou compostos descritos aqui podem ser administrados ao sujeito em uma única liberação de bolus, através de liberação contínua durante um período de tempo prolongado, ou em um protocolo de administração repetida (por exemplo, por um protocolo de administração horária, diária ou semanal, repetida). As formulações farmacêuticas da presente invenção podem ser administradas, por exemplo, 15 uma ou mais vezes ao dia, 3 vezes por semana, ou semanalmente. Em uma modalidade da presente invenção, as formulações farmacêuticas da presente invenção são administradas por via oral uma vez ou duas vezes ao dia.

Um regime de tratamento com os compostos da presente invenção pode começar, por exemplo, depois de um sujeito sofrer de uma lesão 20 prejudicial ao cérebro ou outro insulto inicial mas antes do indivíduo ser diagnosticado com epilepsia, por exemplo, antes do indivíduo ter um primeiro ou segundo ataque apoplético. Em uma modalidade, um sujeito que está sendo tratado com um composto tendo potencial epileptogênico, por exemplo, 25 fármaco psicotrópico, ou um sujeito tendo uma doença associada com um risco de desenvolver epilepsia, por exemplo, autismo, pode começar um regime de tratamento com um composto de carbamato da presente invenção.

Em algumas modalidades, o composto de carbamato pode ser 30 administrado diariamente por um período de tempo determinado (semana, mês, ano) depois da ocorrência da lesão prejudicial ao cérebro ou insulto inicial. Um médico assistente saberá como determinar que o composto de

carbamato atingiu um nível terapeuticamente eficaz, por exemplo, exame clínico de um paciente, ou medindo os níveis de fármaco no sangue ou no fluido cerebrospinal.

5 Neste contexto, uma dosagem terapeuticamente eficaz do um ou mais agentes biologicamente ativos pode incluir doses repetidas dentro de um regime de tratamento prolongado que produzirá resultados clinicamente importantes para prevenir, reverter, interromper, ou inibir o desenvolvimento de epilepsia. A determinação de dosagens eficazes neste contexto é tipicamente baseada em estudos de modelo animal seguidos por provas  
10 clínicas humanas e é orientada determinando dosagens eficazes e protocolos de administração que reduzem significativamente a ocorrência ou gravidade de sintomas de exposição-alvo ou condições no sujeito. Modelos adequados a este respeito incluem, por exemplo, murinos, ratos, porcinos, felinos, primatas não-humanos, e outros sujeitos modelos animais aceitos conhecidos na técnica. Alternativamente, dosagens eficazes podem ser determinadas usando modelos in vitro (por exemplo, provas imunológicas e histopatológicas). Usando os modelos referidos, somente cálculos e ajustes ordinários são tipicamente requeridos para determinar uma concentração e dose apropriadas para administrar uma quantidade terapeuticamente eficaz  
15 do um ou mais agentes biologicamente ativos (por exemplo, quantidades que são eficazes por via intranasal, eficazes por via transdérmica, eficazes por via intravenosa, ou eficazes por via intramuscular para provocar uma resposta desejada).

25 Em uma modalidade típica da presente invenção, formas de dosagem unitária dos compostos são preparadas para regimes de administração de rotina. Deste modo, a composição pode ser subdividida prontamente em doses menores a critério do clínico. Por exemplo, dosagens unitárias podem ser compostas em pós embalados, frascos ou ampolas e preferencialmente em forma de cápsula ou comprimido.

30 O composto ativo presente nestas formas de dosagem unitária da composição pode estar presente em uma quantidade de, por exemplo, a partir de cerca de 10 mg. a cerca de um grama ou mais, para administração

única ou múltipla diária, de acordo com a necessidade particular do paciente. Ao iniciar o regime de tratamento com uma dose diária mínima de cerca de um grama, os níveis sanguíneos dos compostos de carbamato podem ser usados para determinar se é indicada uma dose maior ou menor.

5                   A administração eficaz dos compostos de carbamato desta invenção pode ser administrada, por exemplo, em uma dose oral ou parenteral de a partir de cerca de 0,01 mg/kg/dose a cerca de 150 mg/kg/dose. Preferencialmente, a administração será a partir de cerca de 0,1 /mg/kg/dose a  
10                   cerca de 25 mg/kg/dose, mais preferencialmente a partir de cerca de 0,2 a cerca de 18 mg/kg/dose. Portanto, a quantidade terapeuticamente eficaz do ingrediente ativo contido por unidade de dosagem conforme descrito aqui pode ser, por exemplo, a partir de cerca de 1 mg/dia a cerca de 7000 mg/dia para um sujeito tendo, por exemplo, um peso médio de 70 kg.

#### Kits para uso no tratamento de epileptogênese

15                   Depois de um fármaco compreendendo um composto de carbamato ter sido formulado em um veículo adequado, pode ser colocado em um recipiente apropriado e etiquetado para tratamento de epileptogênese. Adicionalmente, outro fármaco compreendendo no mínimo um agente terapêutico diverso útil no tratamento de epileptogênese, epilepsia ou outro distúrbio ou condição associado com epileptogênese pode ser colocado no re-  
20                   cipiente também e etiquetado para tratamento da doença indicada. A marcação referida pode incluir, por exemplo, instruções referentes à quantidade, frequência e método de administração de cada fármaco.

25                   Embora a invenção precedente tenha sido descrita em detalhes a título de exemplo para fins de clareza de entendimento, será evidente para o versado que algumas alterações e modificações são compreendidas pela descoberta e podem ser praticadas sem indevida experimentação dentro do âmbito das reivindicações anexadas, as quais são apresentadas a título de ilustração, não limitação. Os exemplos seguintes são proporcionados para  
30                   ilustrar aspectos específicos da invenção e não pretendem ser limitações.

#### Exemplos

A atividade de um S-enantiômero isolado de Fórmula 1 (por e-

xemplo, Fórmula 7), aqui referido como o "composto de teste" ou TC, foi avaliada nos seguintes experimentos para determinar a eficácia do composto para neuroproteção e no tratamento de epileptogênese no modelo de epilepsia do lobo temporal induzido por lítio e pilocarpina no rato.

## 5 Exemplo 1

### O modelo de epilepsia do lobo temporal por lítio-pilocarpina

O modelo induzido em ratos por pilocarpina associada com lítio (Li-Pilo) reproduz a maior parte das características clínicas e neurofisiológicas de epilepsia do lobo temporal humano (Turski et al., 1989, Synapse 3:154-171; Cavalheiro, 1995, Ital J Neurol Sci 16:33-37). Em ratos adultos, a administração sistêmica de pilocarpina leva a estado epiléptico (SE). O índice de letalidade atinge 30 a 50% durante os primeiros dias. Nos animais sobreviventes, lesão neuronal predomina dentro da formação hipocampal, os córtices piriforme e entorrinal, tálamo, complexo amigdalóide, neocortex e substantia nigra. Este período de ataque apoplético agudo é seguido por uma fase livre de ataque apoplético "silencioso" durando por uma duração média de 14 a 25 dias depois do qual todos os animais apresentam ataques apopléticos convulsivos recorrentes espontâneos na frequência usual de 2 a 5 por semana (Turski et al., 1989, Synapse 3:154-171; Cavalheiro, 1995, Ital J Neurol Sci 16:33-37; Dube et al., 2001, Exp Neurol 167:227-241).

### Lítio-pilocarpina e tratamentos com o composto de teste

Ratos machos Wistar pesando 225 a 250 g, proporcionados pelo Janvier Breeding Center (Le Genest-St-Iste, França) foram alojados sob condições padrão controladas (ciclo de luz / escuridão, luzes ligadas das 7:00 horas da manhã às 7:00 horas da noite), com ração e água disponíveis à vontade. Toda a experimentação animal foi realizada de acordo com as regras da Diretiva do Conselho das Comunidades Europeias de 24 de novembro de 1986 (86/609/EEC), e do Departamento Francês de Agricultura (French Department of Agriculture, Licença N° 67-97). Para implantação de eletrodos, os ratos foram anestesiados por uma injeção i.p. de 2,5 mg/kg de diazepam (DZP, Valium, Roche, França) e 1 mg/kg de cloridrato de quetamina (Imalgene 1000, Rhone Merrieux, França). Quatro eletrodos de registro

de único-contato foram colocados sobre o crânio, sobre o *córtex* parietal, dois sobre cada lado.

Indução de estado epiléptico:

Tratamento com o composto de teste e ocorrência de ataques apopléticos

5 recorrentes espontâneos (SRS)

Todos os ratos receberam cloreto de lítio (3 meq/kg, i.p., Sigma, St Louis, Mo, E.U.A.); cerca de 20 h depois, os animais foram colocados dentro de caixas de plexiglas, de modo a registrar o EEG cortical basal. Brometo de metilescopolamina (1 mg/kg, s.c., Sigma) foi administrado para  
10 limitar os efeitos periféricos do convulsivante. Foi induzido estado epiléptico injetando cloridrato de pilocarpina (25 mg/kg, s.c., Sigma) 30 min depois da metil-escopolamina. A atividade cortical do EEG bilateral foi registrada durante toda a duração do estado epiléptico e foram observadas alterações comportamentais.

15 Os efeitos de doses crescentes do composto de teste foram estudados em 3 grupos de ratos. Os animais do primeiro grupo receberam 10 mg/kg do composto de teste, i.p., 1 h depois do início do estado epiléptico (pilo-TC10) enquanto os animais dos grupos 2 e 3 receberam 30 e 60 mg/kg do composto de teste (pilo-TC30 e pilo-TC60), respectivamente.

20 Outro grupo foi injetado com 2 mg/kg de diazepam (DZP, i.m.) em 1 h depois do início do estado epiléptico os quais são nosso tratamento padrão para melhorar a sobrevivência dos animais depois do estado epiléptico (pilo-DZP). O grupo de controle receber salina ao invés de pilocarpina e o composto de teste (salina-salina). Os ratos do pilo-composto de teste sobre-  
25 viventes ao estado epiléptico foram em seguida injetados cerca de 10 h depois da primeira injeção do composto de teste com uma segunda injeção i.p. da mesma dose do composto de teste e foram mantidos sob um tratamento de duas vezes ao dia com o composto de teste por 6 dias adicionais. Pilo-DZP receberam uma segunda injeção de 1 mg/kg de DZP no dia do estado  
30 epiléptico a cerca de 10 h depois da primeira injeção. Depois disso, ratos Pilo-DZP e salina-salina receberam duas vezes ao dia um volume equivalente de solução salina.

Os efeitos do composto de teste sobre o EEG e sobre a latência para ocorrência de SRS foram investigados por registro diário em vídeo dos animais por 10 h por dia e o registro da atividade eletrográfica duas vezes por semana por 8 horas.

#### 5 Quantificação de densidades celulares

A quantificação das densidades celulares foi realizada em 6 dias depois do estado epiléptico em 8 ratos pilo-DZP, 8 pilo-TC10, 7 pilo-TC30, 7 pilo-TC60, e 6 salina-salina. Em 14 dias depois do estado epiléptico, os animais foram profundamente anestesiados com 1,8 g/kg de pentobarbital (Dolethal®, Vetoquinol, Lure, França. Em seguida os cérebros foram removidos e congelados. Fatias seriais de 20 µm foram cortadas em um criostato, secadas ao ar durante vários dias antes de coloração por tionina.

A quantificação das densidades celulares foi realizada com uma grade microscópica de 1 cm<sup>2</sup> de 10 x 10 caixas sobre seções coronais de acordo com as coordenadas estereotáxicas do atlas do cérebro de rato (Paxinos e Watson, 1986). As contagens celulares foram realizadas duas vezes em uma maneira cega e foram a média de no mínimo 3 valores de 2 seções adjacentes em cada animal individual. As contagens envolveram somente células maiores do que 10 µm, as células menores sendo consideradas como células gliais.

#### 20 Coloração de Timm

Em 2 meses depois do início dos ataques apopléticos recorrentes espontâneos, o desenvolvimento de fibras musgosas foi examinado em ratos no período crônico exposto ao composto de teste ou DZP e em 3 ratos salina-salina. Os animais foram profundamente anestesiados e perfundido transcardialmente com solução salina seguida por 100 ml de 1,15% (em peso / volume) de Na<sub>2</sub>S em tampão de fosfato a 0,1 M, e 100 ml de 4% (em vol/vol) de formaldeído em tampão de fosfato a 0,1 M. Os cérebros foram removidos do crânio, pós-fixados em formaldeído a 4% durante 3 a 5 horas e seções de 40 µm foram cortadas em um vibratoma deslizante e montadas sobre lâminas revestidas com gelatina.

No dia seguinte, as seções foram desenvolvidas no escuro em

uma solução a 26°C de 50% (em peso / volume) de goma arábica (160 ml), tampão de citrato de sódio (30 ml), 5,7% (em peso / volume) de hidroquinona (80 ml) e 10% (em peso / volume) de nitrato de prata (2,5 ml) durante 40 a 45 min. As seções foram em seguida enxaguadas com água corrente a 5 40°C durante no mínimo 45 min, enxaguadas rapidamente com água destilada e deixadas para secar. Elas foram desidratadas em etanol e cobertas com sobrelâmina.

O desenvolvimento de fibras musgosas foi avaliado de acordo com critérios previamente descritos no hipocampo dorsal (Cavazos et al., 10 1991, J Neurosci 11:2795-2803.), os quais se seguem: 0 - sem grânulos entre as pontas e a crista do DG; 1 - grânulos esparsos na região supragranular em uma distribuição desigual entre as pontas e crista do DG; 2 - grânulos mais numerosos em uma distribuição contínua entre as pontas e crista de DG; 3 - grânulos proeminentes em um padrão contínuo entre pontas e crista, 15 com ocasionais patches de grânulos confluentes entre pontas e crista; 4 - grânulos proeminentes que formam uma banda laminar densa confluyente entre pontas e crista e 5 - banda laminar densa confluyente de grânulos que se estende para dentro da camada molecular interna.

#### Análise de dados

20 Para a comparação das características do estado epiléptico em animais com pilo-salina e com pilo-composto de teste, foi usado um teste t de Student não-pareado. A comparação entre o número de ratos acometendo em ambos os grupos foi realizado por meio de um teste Chi quadrado. Para lesão neuronal, foi realizada análise estatística entre os grupos usando 25 ANOVA seguido por um teste de Fisher para comparações múltiplas usando o software Statview (Fisher RA, 1946a, Statistical Methods for Research Workers (10th edition) Oliver & Boyd, Edinburgh; Fisher RA, 1946b, The Design of Experiments (4th edition) Oliver & Boyd, Edinburgh)

30 Características comportamentais e do EEG de estado epiléptico por lítio-pilocarpina

Um número total de ratos Sprague-Dawley pesando 250 a 330 g foram submetidos a estado epiléptico induzido por Li-pilo. As características

comportamentais do estado epiléptico foram idênticas tanto nos grupos de pilo-salina e pilo-composto de teste. Dentro de 5 min depois da injeção de pilocarpina, os ratos desenvolveram diarreia, piloereção e outros sinais de estimulação colinérgica. Durante os 15 a 20 min seguintes, os ratos apresentaram os ratos apresentaram comportamento de balançar de cabeça, de coçar, de mastigação e exploratório. Ataques apopléticos recorrentes se iniciaram em torno de 15 a 20 minutos depois da administração de pilocarpina. Estes ataques apopléticos os quais associaram episódios de mioclônio de cabeça e pata dianteira bilateral com empinamento e queda progrediram para estado epiléptico em cerca de 35 a 40 min depois de pilocarpina, conforme previamente descrito (Turski et al., 1983, Behav Brain Res 9:315-335.).

#### Padrões de EEG terns durante Estado Epiléptico

Durante a primeira hora do estado epiléptico, na ausência de tratamento farmacológico, a amplitude do EEG aumentou progressivamente enquanto a frequência diminuiu. Dentro de 5 min depois da injeção de pilocarpina, a atividade do EEG de fundo normal foi substituída com atividade rápida de baixa voltagem no córtex enquanto apareceu ritmo teta (5-7 Hz) no hipocampo. Por volta de 15 a 20 min, foram registradas atividade rápida de alta voltagem sobrrposta sobre o ritmo teta hipocampal e isolados picos de alta voltagem somente no hipocampo enquanto a atividade do córtex não mudou substancialmente.

Por volta de 35 a 40 min depois da injeção de pilocarpina, os animais desenvolveram ataques apopléticos eletrográficos típicos com rápida atividade de alta voltagem presente tanto no hipocampo quanto no córtex a qual ocorreu primeiro como explosões de atividade precedendo ataques apopléticos e foram seguidos por contínuas séries de picos de alta voltagem e polipicos durante até a administração de DZP ou do composto de teste. Em cerca de 3 a 4 horas de estado epiléptico, o EEG hipocampal foi caracterizado por descargas eletrográficas periódicas (PEDs, cerca de um segundo) no grupo com pilo-DZP e no pilo-10 tanto no hipocampo quanto no córtex. A amplitude da atividade de fundo do EEG foi baixa nos animais pilo-

TC60. Por volta de 6 a 7 horas de estado epiléptico, ainda estava presente atividade de formação de picos no córtex e no hipocampo nos ratos tratados com DZP e com TC10 enquanto a amplitude da EEG diminuiu e voltou aos níveis basais no hipocampo de ratos TC30 e em ambas as estruturas de ratos tratados com TC60. Não houve diferença entre os grupos TC10, TC30, e TC60. Por volta de 9 horas de estado epiléptico, picos isolados ainda foram registrados no hipocampo de ratos tratados com composto de teste e ocasionalmente no córtex. Em ambas as estruturas, a atividade de fundo foi de amplitude muito baixa neste momento.

#### 10 Mortalidade induzida por estado epiléptico

Durante as primeiras 48 horas depois de estado epiléptico, o grau de mortalidade foi similar em ratos pilo-DZP (23%, 5/22), pilo-TC10 rats (26%, 6/23), and pilo-TC30 rats (20%, 5/25). O índice de mortalidade foi largamente reduzido em ratos pilo-TC60 nos quais somente atingiu 4% (1/23). A diferença foi estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ).

#### 15 Características do EEG da fase silenciosa e ocorrência de ataques apopléticos recorrentes espontâneos

Os padrões do EEG durante o período silencioso foram similares em ratos pilo-DZP e pilo-TC10, 30 ou 60. Em 24 e 48 h dias depois do estado epiléptico, o EEG basal ainda estava caracterizado pela ocorrência de descargas eletrográficas periódicas (PEDs) nas quais largas ondas ou picos podem ser sobrepostos. Entre 1 e 8 h depois de injeção do composto de teste ou injeção de veículo, não houve alteração nos grupos pilo-DZP ou pilo-TC10. Em ratos TC30 e TC60, a frequência e a amplitude das PEDs diminuíram tão cedo quanto 10 minutos depois da injeção e foram substituídas por picos de grande amplitude no grupo TC30 e de baixa amplitude no grupo TC60. Por volta de 4 horas depois da injeção, o EEG tinha retornado aos níveis basais nos dois últimos grupos. Por volta de 6 dias depois do estado epiléptico, o EEG ainda era de menor amplitude do que antes da injeção de pilocarpina e na maioria dos grupos ainda puderam ser registrados picos, ocasionalmente nos ratos pilo-DZP, -TC10 e -TC30. Em ratos pilo-TC60, a frequência de picos de grande amplitude foi maior do que em todos

os outros grupos. Depois da injeção do composto de teste ou de veículo, o registro do EEG não foi afetado pela injeção nos grupos pilo-DZP e pilo-TC10. Em ratos pilo-TC30, a injeção induziu a ocorrência de ondas lentas no EEG tanto do hipocampo quanto do córtex e uma reduzida frequência de picos nos ratos pilo-TC60.

Todos os ratos expostos a DZP, TC10 e TC30 e estudados até a fase crônica desenvolveram SRS com uma latência similar. A latência foi de  $18,2 \pm 6,9$  dias ( $n = 9$ ) em ratos pilo-DZP,  $15,4 \pm 5,1$  dias ( $n = 7$ ) em ratos pilo-TC10,  $18,9 \pm 9,0$  dias ( $n = 10$ ) em ratos pilo-TC30. No grupo de ratos submetidos a TC60, um subgrupo de ratos se tornou epilético com uma latência similar à dos outros grupos, isto é,  $17,6 \pm 8,7$  dias ( $n = 7$ ) enquanto outro grupo de ratos se tornou epiléticos com um atraso muito mais longo variando de 109 a 191 dias pós-SE ( $149,8 \pm 36,0$  dias,  $n = 4$ ) e um rato não se tornou epilético em um atraso de 9 meses pós-SE. A diferença na latência para SRS entre pilo-DZP, pilo-TC10, pilo-TC30 e o primeiro subgrupo de ratos pilo-TPM60 não foi estatisticamente significativa. Nenhum dos ratos salina-salina ( $n = 5$ ) desenvolveu SRS.

Para calcular a frequência de SRS em ratos expostos a pilocarpina, foi considerada a gravidade do ataque apoplético e ataques apopléticos diferenciados estágio III (ataques apopléticos clônicos de músculos faciais e membros anteriores) e estágio IV-V. (empinamento e queda). A frequência de SRS estágio III por semana em ratos pilo-DZP e pilo-composto de teste foi variável entre os grupos. Foi baixa, constante nos grupos pilo-DZP e pilo-TC60 (com início de SRS precoce) durante as 3 primeiras semanas e tinha desaparecido durante a 4<sup>a</sup> semana no grupo pilo-DZP. A frequência de SRS estágio III foi maior no grupo pilo-TC10 onde estava significativamente aumentada sobre valores de pilo-DZP durante as semanas 3 e 4. A frequência de SRS estágio IV-V mais severa foi a maior durante a primeira semana na maioria dos grupos, exceto pilo-TC30 e TC60 com início de ataque apoplético tardio onde a frequência de SRS foi constante durante todas as 4 semanas no grupo TC30 e durante as duas primeiras semanas no grupo pilo-TC60 com início de SRS tardio no qual nenhum ataque apo-

plético estágio IV-V onde nenhum ataque apoplético foi registrado depois da segunda semana. A frequência de SRS estágio IV-V foi significativamente reduzida nos grupos TC10, TC30 e TC60 (com início de SRS precoce) (2.3-6, 1 SRS por semana) comparados com o grupo pilo-DZP (11.3 SRS por semana) durante a primeira semana. Durante as semanas 2-4v a frequência de SRS estágio IV-V foi reduzida em todos os grupos comparada com a primeira semana atingindo valores de 2 a 6 ataques apopléticos por semana, exceto no grupo pilo-TC60 com início de SRS precoce onde a frequência de ataques apopléticos foi significativamente reduzida para 0,6 a 0,9 ataque apoplético por semana comparado com o grupo pilo-DZP no qual a frequência de SRS variou de 3,3 a 5,8.

#### Densidades celulares no hipocampo, tálamo e córtex

Em ratos pilo-DZP comparados com ratos salina-salina, o número de células foi massivamente reduzido na região CA1 do hipocampo (70% de perda celular na camada de células piramidais) enquanto a região CAS foi menos extensivamente danificada (54% de perda celular em CA3a e 31% em CA3b). No giro dentado, os ratos pilo-DZP experimentaram extensiva perda celular no hilo (73%) enquanto a camada de células granulares não apresentou dano visível. Foi observado dano similar no hipocampo ventral mas não foram realizadas contagens celulares nesta região. Também foi registrado dano extensivo no núcleo talâmico lateral (91% de perda celular) enquanto o núcleo talâmico mediodorsal foi mais moderadamente danificado (56%). No córtex piriforme, a perda celular foi total nas camadas III-IV que não foi mais visível e atingiu 53% na camada II em ratos pilo-DZP. No córtex entorrinal dorsal, as camadas II e III-IV sofreram ligeiro dano (9 e 15%, respectivamente). A camada II do córtex entorrinal ventral foi totalmente preservada enquanto as camadas III-IV sofreram uma perda de 44%.

No hipocampo de animais pilo-composto de teste, a perda celular foi reduzida comparados com ratos pilo-DZP na camada piramidal CA1 na qual a perda celular atingiu 75% em animais pilo-DZP e 35 e 16% nos animais pilo-TC30 ou pilo-TC60, respectivamente. Esta diferença foi estatisticamente significativa nas duas doses de composto de teste. Na camada

piramidal CAS, o composto de teste não proporcionou qualquer proteção na área CA3a enquanto a dose de 60 mg/kg do composto de teste foi significativamente neuroprotetora em CA3b. No giro dentado, a perda celular no hilo foi similar em animais pilo-composto de teste (69-72%) e pilo-DZP (73%).

5 Nos dois núcleos talâmicos, a dose de 60 mg/kg também foi protetora reduzindo o dano neuronal por 65 e 42% no núcleo lateral e mediodorsal, respectivamente. No córtex cerebral, o tratamento com o composto de teste proporcionou proteção neuronal comparado com DZP somente na maior dose, 60 mg/kg. Nas duas menores doses, 10 e 30 mg/kg, a perda total de

10 células e desorganização de tecido observadas nas camadas III-IV do córtex piriforme foi idêntica em ratos pilo-DZP e ratos pilo-composto de teste e não permitiu qualquer contagem em quaisquer dos grupos. Nas camadas II e III-IV do córtex piriforme, o tratamento com TC60 reduziu o dano neuronal registrado nos ratos pilo-DZP por 41 e 44%, respectivamente. No córtex entorrinal ventral, foi induzida neuroproteção por administração de TC60 nas

15 camadas III-IV e atingiu 31% comparados com ratos pilo-DZP. No córtex entorrinal, houve uma ligeira piora da perda celular em ratos pilo-TC10 comparados com ratos pilo-DZP nas camadas III-IV do córtex entorrinal dorsal (28% mais dano) e camadas III-IV do córtex entorrinal ventral (35% mais dano).

20 Nas outras doses do composto de teste, a perda celular no córtex entorrinal foi similar à perda registrada em ratos pilo-DZP.

#### Desenvolvimento de fibras musgosas no hipocampo

Todos os ratos apresentando SRS em grupos tratados com pilo-DZP e pilo-TPM apresentaram intensidade similar de tingimento de Timm na

25 camada molecular interna do giro dentado (escores 2 a 4). O tingimento de Timm estava presente tanto nas lâminas superior quanto inferior do giro dentado. O valor médio do escore de Timm na lâmina superior atingiu  $2,8 \pm 0,8$  em ratos pilo-DZP ( $n = 9$ ),  $1,5 \pm 0,6$  em ratos pilo-TC10 ( $n = 7$ ),  $2,6 \pm 1,0$  em ratos pilo-TC30 ( $n = 10$ ), e  $1,5 \pm 0,7$  em todo o grupo de ratos pilo-TC60

30 ( $n = 11$ ). Quando o grupo de pilo-composto de teste a 60 mg/kg foi subdividido de acordo com a latência para SRS, o subgrupo com ocorrência de SRS inicial apresentou um escore de Timm de  $1,8 \pm 0,6$  ( $n = 6$ ) e o subgrupo

de ratos com ocorrência tardia ou ausência de SRS teve um escore de Timm de  $1,2 \pm 0,6$  ( $n = 5$ ). Os valores registrados nos ratos pilo-DZP foram estatisticamente significativamente diferentes dos valores no subgrupo pilo-TC10 ( $p = 0,032$ ) e no subgrupo pilo-TC60 com ataques apopléticos tardios ou sem ataques apopléticos ( $p = 0,016$ ).

#### Discussão e conclusões

Os resultados do presente estudo mostram que um tratamento de 7 dias com o composto de teste iniciando em 1 h depois do início do estado epilético é capaz de proteger algumas áreas cerebrais contra lesão neuronal, por exemplo, na camada de células piramidais da área CA1 e CA3b, o tálamo mediodorsal, camadas II e III/IV do córtex piriforme e camadas III-IV do córtex entorrinal ventral, mas somente na maior dose do composto de teste, isto é, 60 mg/kg. A última dose do composto de teste também é capaz de retardar a ocorrência de SRS, no mínimo em um subgrupo de animais que se tornaram epiléticos com um retardo médio que foi cerca de 9 vezes mais longo do que nos outros grupos de animais e um animal não se tornou epilético em um retardo de 9 meses depois do estado epilético.

Estes resultados mostram que um composto com propriedades antiictais, as quais são as propriedades clássicas dos fármacos comercializados mais antiepiléticos, também é capaz de retardar a epileptogênese, isto é, é antiepileptogênico. Os dados do presente estudo também mostram que o tratamento com o composto de teste, qualquer que seja a dose usada, reduz a gravidade da epilepsia uma vez que reduz o número de ataques apopléticos do estágio IV-V, principalmente durante a primeira semana de ocorrência e durante todo o período de 4 semanas de observação com o composto de teste em tratamento com 60 mg/kg. Além disso, no grupo de TC10, há uma alteração para um aumento na ocorrência de ataques apopléticos do estágio III menos graves que são mais numerosos do que no grupo de pilo-DZP.

#### Exemplo Dois

O objetivo do presente projeto foi continuar o estudo reportado

no Exemplo um acima sobre as potenciais propriedades neuroprotetoras e antiepileptogênicas do composto de teste (TC) no modelo de de epilepsia do lobo temporal por lítio-pilocarpina (Li-Pilo). No primeiro estudo foi demonstrado que o composto de teste foi capaz de proteger as áreas CA1 e CA3 do hipocampo, córtex o piriforme e ventral entorrinal contra lesão neuronal induzida por estado epilético (SE) por Li-Pilo. A maioria destas propriedades neuroprotetoras ocorreu na maior dose estudada, 60 mg/kg e o tratamento foi capaz de retardar a ocorrência de ataques apopléticos espontâneos em 36% (4 em 11) dos ratos. No presente exemplo, são estudadas as consequências de tratamento por maiores doses do composto de teste sobre o dano neuronal e a epileptogênese.

O modelo de epilepsia do lobo temporal induzida por lítio-pilocarpina

O modelo de epilepsia induzida em ratos por pilocarpina associada com lítio (Li-Pilo) reproduz a maioria das características clínicas e neurofisiológicas de epilepsia do lobo temporal humana (Turski et al., 1989; Cavalheiro, 1995). Em ratos adultos, a administração sistêmica de pilocarpina leva a estado epilético o qual pode durar por até 24 horas. O índice de letalidade atinge 30 a 50% durante os primeiros dias. Nos animais sobreviventes, o dano neuronal predomina dentro da formação hipocampal, os córtices piriforme e entorrinal, o tálamo, o complexo amigdalóide, o neocórtex e a substantia nigra. Este período de ataque apoplético é seguido por uma fase livre de ataque apoplético "silencioso" durando por uma duração média de 14 a 25 dias depois dos quais todos os animais apresentam ataques apopléticos convulsivos recorrentes espontâneos na frequência usual de 2 a 5 por semana (Turski et al., 1989; Cavalheiro, 1995; Dubé et al., 2001). Os fármacos antiepiléticos atuais não previnem a epileptogênese e são somente transietoriamente eficientes sobre ataques apopléticos recorrentes.

No estudo anterior, estudou-se os potenciais efeitos neuroprotetores e antiepileptogênicos de doses crescentes do composto de teste administradas em monoterapia e comparadas com o tratamento padrão com diazepam (DZP) administrado principalmente para prevenir alta mortalidade.

Estes dados mostram que um tratamento de 7 dias com 10, 30 ou 60 mg/kg do composto de teste iniciando em 1 hora depois do início do estado epiléptico é capaz de proteger algumas áreas cerebrais contra dano neuronal. Este efeito é estatisticamente significativo na camada celular piramidal da área CA1 e CA3b, o tálamo mediodorsal, as camadas II e III-IV do córtex piriforme e as camadas III-IV do córtex ventral entorrinal, mas somente na maior dose de composto de teste, isto é, 60 mg/kg. Além disso, parece que a última dose de composto de teste também é a única dose de composto de teste que é capaz de retardar a ocorrência de SRS, no mínimo em um subgrupo de animais que se tornaram epilépticos com um retardo médio que foi cerca de 9 vezes mais longo do que nos outros grupos de animais e um animal não se tornou epiléptico em um atraso de 9 meses depois do estado epiléptico.

No presente estudo, os efeitos de diferentes doses do composto de teste, isto é, 30, 60, 90 e 120 mg/kg (TC30, TC60, TC90 e TC120) foram testados usando o mesmo design que no estudo anterior. O tratamento foi iniciado uma hora depois do início do estado epiléptico e os animais foram tratados com uma segunda injeção da mesma dose do fármaco. Este tratamento inicial do estado epiléptico foi seguido por um tratamento de 6 dias com TC. Este relatório diz respeito aos efeitos das quatro diferentes doses de TC sobre dano neuronal avaliado no hipocampo, nos córtices parahipocámpais, no tálamo e na amígdala em 14 dias depois de estado epiléptico e sobre a latência para e a frequência de ataques epilépticos espontâneos.

### Métodos

#### Animais

Ratos machos adultos Sprague-Dawley proporcionados pelo Janvier Breeding Center (Le Genest-St-Isle, França) foram alojados sob condições padronizadas controladas e não apinhadas em 20 a 22°C (ciclo de luz/ escuridão, luzes ligadas das 7 horas da manhã às 7 horas da noite), com alimento e água disponíveis à vontade. Toda a experimentação animal foi realizada de acordo com as regulamentações da Diretiva do Conselho das Comunidade Européia de 24 de novembro de 1986 (European Communities Council Directive, 86/609/EEC), e o Departamento de Agricultura Francês

(French Department of Agriculture, Licença N° 67-97).

#### Indução de estado epiléptico, tratamento com TC e ocorrência de SRS

Todos os ratos receberam cloreto de lítio (3 meq/kg, i.p., Sigma, St Louis, Mo, E.U.A.) e cerca de 20 horas depois, todos os animais também receberam brometo de metilescopolamina (1 mg/kg, s.c., Sigma) que foi administrado para limitar os efeitos periféricos do convulsivante. Foi induzido estado epiléptico injetando cloridreto de pilocarpina (25 mg/kg, s.c., Sigma) 30 min depois da metilescopolamina. Os efeitos de doses crescentes de TC foram estudados em 5 grupos de ratos. Os animais receberam ou 2,5 mg/kg de DZP, i.m., ou 30, 60, 90 ou 120 mg/kg de TC (TC30, TC60, TC90, TC120), i.p., em 1 hora depois do início do estado epiléptico. O grupo controle recebeu veículo ao invés de pilocarpina e TC. Os ratos sobreviventes ao estado epiléptico foram em seguida injetados cerca de 10 horas depois da primeira injeção de TC com uma segunda injeção i.p. de 1,25 mg/kg de DZP para o grupo de DZP ou da mesma dose de TC como de manhã e foram mantidos sob um tratamento de duas vezes ao dia de TC (s.c.) por 6 dias adicionais enquanto os ratos DZP receberam uma injeção de veículo.

Os efeitos de DZP e as 4 doses de TC sobre a epileptogênese foram investigados por registro em vídeo diário dos animais por 10 h por dia. O registro em vídeo foi realizado por 4 semanas durante as quais foi observada a ocorrência do primeiro ataque apoplético bem como o número total de ataques apopléticos durante todo o período. Em seguida os animais foram retirados do sistema de registro em vídeo e mantidos por 4 semanas adicionais nas instalações para animais antes de serem sacrificados depois de um período total de 8 semanas de epilepsia. Os ratos que não apresentaram ataques apopléticos foram sacrificados depois de 5 meses de registro em vídeo.

#### Quantificação das densidades celulares

A quantificação das densidades celulares foi realizada em dois momentos depois de estado epiléptico: um primeiro grupo foi estudado 14 dias depois de estado epiléptico e foi composto por 7 ratos tratados com DZP, 8 TC30, 11 TC60, 10 TC90, 8 TC120 e 8 ratos controle não submetidos a estado epiléptico. Um segundo grupo usado para o estudo da latência

para SRS foi sacrificado ou 8 semanas depois do primeiro SRS ou em 5 meses quando não pode ser visto SRS neste atraso e foi composto por 14 ratos tratados com DZP, 8 TC30 , 10 TC60 , 11 TC90 , 9 TC120. No momento, ainda está em progresso no segundo grupo de animais estudados para epileptogênese a contagem neuronal e a contagem de longo termo e os dados concernentes a esta parte do estudo não serão incluídos no presente relatório.

Para contagem neuronal, os animais foram profundamente anestesiados com 1,8 g/kg de pentobarbital (Dolethal®, Vétoquinol, Lure, França). Em seguida os cérebros foram removidos e congelados. Fatias seriadas de 20 µm foram coradas em um criostato, secadas ao ar durante vários dias antes de tingimento com tionina. Foi realizada quantificação das densidades celulares com uma grade microscópica de 1 cm<sup>2</sup> de caixas de 10 x 10 sobre seções coronais de acordo com as coordenadas estereotáticas do atlas do cérebro dos ratos (Paxinos e Watson, 1986). A grade de contagem foi colocada sobre uma área bem-definida da estrutura cerebral de interesse e foi realizada contagem com um alargamento microscópico de 200 ou de 400 vezes definido para cada estrutura cerebral única. Foram realizadas contagens celulares duas vezes sobre cada lado de três seções adjacentes para cada região por um único observador não ciente do tratamento dos animais. Foi feita a medida do número de células obtidas nos 12 campos contados em cada estrutura cerebral. Este procedimento foi usado para minimizar os erros potenciais que podem resultar de dupla contagem levando a superestimativa dos números de células. Neurônios tocando as bordas inferior e direita da grade não foram contados. As contagens envolveram somente neurônios com corpos celulares maiores do que 10 µm. Células com corpos celulares pequenos foram consideradas como células gliais e não foram contadas.

#### Análise de Dados

Para dano neuronal e epileptogênese, foi realizada análise estatística entre grupos por meio de uma análise one-way da variância seguida por um teste de Fisher ou Dunnett post-hoc usando o programa Statistica.

#### Resultados

Características comportamentais de estado epiléptico por lítio-

pilocarpina

Um número total de 143 ratos Sprague-Dawley pesando 250 a 330 g foram submetidos a estado epiléptico induzido por lítio-pilocarpina (Li-pilo). Neste número 10 não desenvolveram estado epiléptico ao passo que 5 133 ratos desenvolveram um estado epiléptico por Li-pilo característico pleno. As características comportamentais do estado epiléptico foram idênticas tanto nos grupos li-pilo-DZP quanto li-pilo-TC. Dentro de 5 min depois da injeção de pilocarpina, os ratos desenvolveram diarreia, piloereção e outros 10 sinais de estimulação colinérgica. Durante os 15 a 20 min seguintes, os ratos apresentaram comportamento de balançar de cabeça, de coçar, de mastigação e exploratório. Ataques apopléticos recorrentes se iniciaram em torno de 15 a 20 minutos depois da administração de pilocarpina. Estes ataques apopléticos os quais associaram episódios de mioclônio de cabeça e 15 pata dianteira bilateral com empinamento e queda progrediram para estado epiléptico em cerca de 35 a 40 minutos depois de pilocarpina, conforme descrito previamente (Turski et al., 1989; Dubé et al., 2001; André et al., 2003). O grupo de controle não submetido a estado epiléptico e recebendo lítio e solução salina foi composto de 20 ratos.

No grupo de 57 animais devotado a contagem celular em 14 di- 20 as depois de estado epiléptico, um número total de 13 ratos morreu durante as primeiras 48 horas depois de estado epiléptico. O grau de mortalidade variou com o tratamento: 36% (4/11) dos ratos DZP, 33% (4/12) dos ratos TC30, 8% (1/12) dos ratos TC60, 0% (0/10) dos ratos TC90 e 33% (4/12) dos ratos TC120 morreram. No grupo de DZP, os 4 ratos morreram nas pri- 25 meiras 24 horas depois de estado epiléptico. No grupo de ratos TC30, um rato morreu no dia do estado epiléptico, um rato estava morto cerca de 24 horas depois de estado epiléptico e dois ratos cerca de 48 horas. No grupo de ratos TC60, um rato morreu em 48 horas depois de estado epiléptico. No grupo de ratos TC120, dois ratos estavam mortos cerca de 24 horas e dois 30 cerca de 48 horas depois de estado epiléptico.

No grupo de 55 animais devotado ao estudo da latência para SRS e contagem celular final, o grau de mortalidade durante as primeiras 48

horas depois de estado epiléptico foi o seguinte: 7% (1/14) dos ratos DZP, 27% (3/11) dos ratos TC30, 0% (0/10) dos ratos TC60, 0% (0/11) dos ratos TC90 e 0% (0/9) dos ratos TC120 morreram. No grupo de ratos DZP, um rato morreu durante as primeiras 24 horas depois de estado epiléptico. No grupo de TC30, dois ratos estavam mortos em 24 horas e um em 48 horas depois de estado epiléptico.

Densidades celulares no hipocampo e no córtex na fase inicial (14 dias depois de estado epiléptico).

Em ratos DZP comparados com ratos controle, o número de neurônios foi massivamente reduzido na região CA1 do hipocampo (queda de 85% na camada de células piramidais) ao passo que a região CA3 foi danificada menos extensivamente (perda de 40%) (Tabela 1 e figura 1). No giro dentado, ratos DZP sofreram extensiva perda neuronal no hilo (65%) ao passo que a camada de células granulares não apresentou dano patente. A mesma distribuição de dano foi observada no hipocampo ventral mas não foram realizadas contagens celulares nesta região.

No tálamo, a perda neuronal foi moderada nos núcleos mediodorsal central e lateral, no dorsolateral medial dorsal e no central medial (queda de 18, 24, 40 e 34%, respectivamente), mais acentuada no núcleo mediodorsal (49%) e maior na divisão ventral lateral do núcleo dorsolateral (90%) (Tabela 1 e figura 2). Na amígdala, a perda neuronal foi moderada no núcleo medial ventral posterior (38%) e mais acentuada nos núcleos basolateral e medial dorsal anterior (queda de 73 e 53%, respectivamente). Não houve dano neuronal no núcleo central (Tabela 1 e figura 3).

No córtex piriforme, a perda neuronal foi quase total na camada III (94%) a qual não foi mais prontamente visível e atingiu 66 e 89% na camada dorsal e ventral II, respectivamente em ratos DZP comparados com ratos controle tratados com solução salina. No córtex dorsal entorrinal, as camadas II e III-IV sofreram ligeiro dano (18 e 24%, respectivamente) e nas camadas ventrais II e III/IV, o dano atingiu 22 e 74%, respectivamente (Tabela 1 abaixo e figura 4).

**Tabela 1:** Efeitos de doses crescentes de TC sobre o número de corpos celulares neuronais no hipocampo, tálamo, amígdala e córtex cerebral de ratos submetidos a li-pilo=SE.

	Controle (n=10)	pilo-DZP (n=7)	pilo-TC30 (n=8)	pilo-TC60 (n=11)	pilo-TC90 (n=10)	pilo-TC120 (n=8)
<b>Hipocampo</b>						
Área CA1	74,8 ± 1,5	10,9 ± 1,9**	39,3 ± 4,4***	31,9 ± 4,4***	47,7 ± 6,6*°	65,5 ± 2,9°
Área CA3	52,1 ± 2,7	31,3 ± 2,9**	35,7 ± 1,8**	31,6 ± 1,4**	35,1 ± 2,9**	39,8 ± 1,5**
Hilus	96,4 ± 3,5	33,5 ± 3,0**	33,0 ± 3,2**	32,8 ± 3,3**	37,5 ± 3,1**	44,8 ± 2,9**
<b>Tálamo</b>						
Mediodorsal medial	31,9 ± 0,9	16,4 ± 1,9**	11,5 ± 2,5**	19,1 ± 2,6**	23,1 ± 2,8°	28,6 ± 0,8°
Mediodorsal central	31,9 ± 1,2	26,3 ± 1,8**	26,9 ± 0,6*	24,1 ± 1**	27,4 ± 1,5	29,9 ± 1,7°
Mediodorsal lateral	25,9 ± 0,6	19,6 ± 0,8**	20,5 ± 0,7**	18,9 ± 0,6**	22 ± 1,2*°	24,4 ± 1,1°
Dorsolateral, medial, dorsal	102,2 ± 2,5	61 ± 6,3**	64,2 ± 9,3***	77,5 ± 3,9***	79,4 ± 3,1***	89,8 ± 3,7*°
Dorsolateral, ventral lateral	97,8 ± 1,7	9,7 ± 2,5**	8,8 ± 2,8**	56,7 ± 8,7**	71,8 ± 5,3°*	79,0 ± 4,7°
Central medial	113,1 ± 5,9	74,2 ± 7,4*	75,6 ± 7,7*	83,7 ± 9,6*	88,2 ± 8,5	108,2 ± 6,6°
<b>Amígdala</b>						
Basolateral	46,7 ± 1,2	12,8 ± 5,3**	27,3 ± 4,9***	27,8 ± 4,3***	40,7 ± 1,6°	42,7 ± 1,3°

Tabela 1: -continuação-

	Controle (n=10)	pilo-DZP (n=7)	pilo-TC30 (n=8)	pilo-TC60 (n=11)	pilo-TC90 (n=10)	pilo-TC120 (n=8)
<b>Amígdala</b>						
Medial, dorsal anterior	84,3 ± 3,8	40,0 ± 2,5**	46,8 ± 5,0**	58,4 ± 2,8***	72,2 ± 5,7°	80,2 ± 2,6°
Medial, ventral posterior	35,1 ± 1,7	21,8 ± 2,4**	22,3 ± 1,8**	26,2 ± 2,9**	30,7 ± 3,7°	34,7 ± 1,7°
<b>Córtex cerebral</b>						
Piriforme, camada II, dorsal	36,6 ± 0,8	12,6 ± 4,2**	15,7 ± 2,9**	27,5 ± 2,8***	32,4 ± 1,1°	35,2 ± 1,1°
Piriforme, camada II, ventral	33,0 ± 0,8	3,6 ± 0,7**	7,2 ± 3,8**	13,7 ± 4,2**	18,4 ± 4,0°	30,5 ± 1,3°
Piriforme, camada III	19,2 ± 0,7	1,2 ± 1,2**	1,8 ± 1,8**	6,4 ± 2,3**	9 ± 3,0°	15 ± 2,2°
Entorrinal, camada II, dorsal	29 ± 0,6	23,5 ± 0,7**	23,4 ± 0,6**	23,9 ± 0,5**	26,3 ± 0,9**	27,3 ± 0,5°
Entorrinal, camada II, ventral	26,8 ± 0,7	21,7 ± 1,3**	22,7 ± 0,9	23,3 ± 0,8**	25,4 ± 1,1°	25,1 ± 0,6
Entorrinal, camada III/IV, dorsal	29,2 ± 0,9	22,3 ± 0,5**	22,3 ± 0,5**	23,2 ± 0,8**	26,7 ± 0,8*	26,4 ± 0,7°
Entorrinal, camada III/IV, ventral	28,7 ± 1,7	7,7 ± 2,3**	13,2 ± 1,9**	16,5 ± 2,2**	23,7 ± 1,5°	24,5 ± 1,4°

\* p < 0,05, \*\* p < 0,01, diferença estatisticamente significativa entre ratos pilo-TC e controle li-salina

° p < 0,05, °° p < 0,01, diferenças estatisticamente significantes entre ratos pilo-TC e pilo-DZP

No hipocampo de animais tratados com TC, a perda celular foi significativamente reduzida comparada com ratos DZP na camada de células piramidais CA1. Esta redução foi acentuada em ratos TC30, 60 ou 90 (perda celular de 36 a 47%) e proeminente no grupo TC120 (perda celular de 12%). As diferenças foram estatisticamente significantes em todas as doses de TC (Tabela 1 e figura 1). Na camada piramidal CA3, houve uma tendência a uma ligeira neuroproteção induzida por RWJ, somente na dose de 120 mg/kg mas a diferença com o grupo DZP não foi significativa. No giro dentado, a perda celular no hilo foi similar nos grupos DZP e TC30, 60 e 90 (queda de 61-66%) e houve uma ligeira tendência a dano reduzido no grupo TC120 (perda neuronal de 53%) comparado com animais DZP (queda de 66%). Nenhuma destas diferenças foi estatisticamente significativa.

No tálamo, a perda neuronal foi similar em ratos DZP e TC30 e TC60. TC foi significativamente protetor na dose de 60 mg/kg no núcleo dorsolateral medial dorsal e nas duas maiores doses, 90 e 120 mg/kg em todos os núcleos talâmicos, embora a diferença não tenha atingido significância nos núcleos mediodorsal central e central medial nos ratos TC90. Em ratos TC120, a queda neuronal foi consideravelmente reduzida comparada com ratos DZP. Variou de 4 a 19% e o número de neurônios não foi mais significativamente diferente de animais controle, exceto no núcleo dorsolateral medial dorsal (Tabela 1 e figura 2). Na amígdala, TC foi significativamente protetor na dose de 30 mg/kg no núcleo basolateral e na dose de 60 mg, também no núcleo medial dorsal anterior. Na maior dose, TC foi largamente neuroprotetor; o número de neurônios não foi mais significativamente diferente do nível de controle e atingiu 86 a 99% do nível de controle em todos os núcleos da amígdala (Tabela 1 e figura 3).

No córtex cerebral, o tratamento com TC não protegeu significativamente qualquer área cortical comparada com o tratamento com DZP na dose de 30 mg/kg. A 60 mg/kg, TC reduziu significativamente a perda neuronal somente na camada II do córtex piriforme dorsal (25% de queda comparado com 66% no grupo de DZP). A 90 e 120 mg/kg, TC protegeu significativamente todas as três áreas do córtex piriforme comparado com o tra-

tamento com DZP e na maior dose de TC, 120 mg/kg, a densidade neuronal atingiu 78 a 96% dos níveis de controle, mesmo no córtex piriforme, a camada dorsal II e a camada III onde a população neuronal estava quase totalmente depletada no grupo de DZP. Em todas as camadas do córtex dorsal e ventral entorrinal, as duas menores doses de TC, 30 e 60 mg/kg não proporcionaram qualquer neuroproteção. A dose de 90 mg/kg de TC protegeu significativamente as camadas II e III/IV do córtex ventral entorrinal (4 e 17% de dano remanescente nas camadas II e II/IV da parte dorsal e na camada II da parte ventral comparada com 19 e 73% no grupo de DZP). Na maior dose de TC, 120 mg/kg, todas as partes do córtex entorrinal, tanto dorsal quanto ventral foram protegidas e o número de neurônios nestas áreas não foi mais significativamente diferente do nível nos controles (85 a 94% de neurônios sobreviventes comparado com 27 a 81% no grupo de DZP).

#### Latência para e freqüência de ataques apopléticos recorrentes

A latência para ataques apopléticos espontâneos atingiu um valor médio de  $15,5 \pm 2,3$  dias no grupo de DZP (14 ratos) e foi similar ( $11,6 \pm 2,5$  dias) no grupo de TC30 (8 ratos). Em maiores concentrações de TC, os animais podem ser subdivididos em subgrupos com latências curtas e longas. Uma latência curta foi considerada como qualquer duração mais curta do que 40 dias depois de estado epilético. Alguns ratos apresentaram uma latência para o primeiro ataque apoplético espontâneo que foi similar à registrada nos grupos de DZP e de TC mas o número de ratos apresentando estes valores de latência curta diminuiu progressivamente com o aumento na concentração de TC. Portanto, em 30 mg/kg, 70% dos ratos (7/10) tiveram latências curtas para ataques apopléticos ao passo que em 90 e 120 mg/kg, esta percentagem atingiu 36% (4/11) e 11% (1/9), respectivamente (Tabela 2 abaixo e figura 5).

Tratamento	Número de animais	Latência para o primeiro ataque apoplético espontâneo (dias)		
DZP	14	15,5 ± 2,34		
pilo-TC30	8	11,6 ± 2,5		
pilo-TC60	10	<b>2 grupos</b>		
		Curta latência (n = 7)	Longa latência (n = 3)	
		17,4 ± 5,4	76,7 ± 15,6** °°	
pilo-TC90	11	<b>3 grupos</b>		
		Curta latência (n = 4)	Longa latência (n = 2)	Não-epiléptico (n = 5)
		14,8 ± 5,7	52,0 ± 1,0* °	150** °°
pilo-TC120	9	<b>3 grupos</b>		
		Curta latência (n = 1)	Longa latência (n = 4)	Não-epiléptico (n = 4)
		13,0	84,5 ± 16,7** °°	150** °°

**Tabela 2:** Efeito de doses crescentes de TC sobre a latência para ataques apopléticos espontâneos.

\*\* p < 0,01, \* p < 0,05, diferenças estatisticamente significantes comparado com o grupo pilo-DZP

5 °° p < 0,01, ° p < 0,05, diferenças estatisticamente significantes comparado com o grupo de curta latência

Nos grupos de TC60, 90 e 120, o valor médio dos ratos com longas latências foi similar e variou de 52 a 85 dias. Finalmente, nas duas maiores doses de TC, nós fomos capazes de identificar uma percentagem de ratos que não desenvolveram qualquer ataque apoplético durante uma duração de 150 dias pós-SE. A percentagem de ratos não-epilépticos atingiu 45% em ambas as doses de TC.

A freqüência de ataques apopléticos espontâneos foi similar durante as quatro semanas de registro. Apresentou uma tendência de ser mai-

or no grupo de DZP e TC30 enquanto foi menor nos grupos de TC60, 90 e 120 (figura 6). Estas diferenças não atingiram importância estatística no nível de cada frequência semanal individual mas atingiram importância para o número total ou médio de ataques apopléticos durante as quatro semanas.

5 O número de ataques apopléticos também foi plotado de acordo com a duração da latência para o primeiro ataque apoplético espontâneo. Animais com uma latência curta apresentaram uma tendência para apresentar 2 a 3 vezes mais ataques apopléticos durante as quatro semanas de registro do que ratos com um longo período de latência. Não pode ser realizada  
10 análise estatística uma vez que ANOVA não apresentou qualquer significância, mais provavelmente porque houve somente um animal no subgrupo de curta latência dos animais TC120 (figura 7). No entanto, quando todos os valores de latência foram plotados contra o número de ataques apopléticos, houve uma correlação inversa significativa levando a uma linha reta com um  
15 coeficiente de correlação de  $-0,4$  (figura 8).

Para finalizar esta análise, serão realizadas mais duas medições. A primeira é contagem celular sobre os animais que foram registrados por vídeo e seguidos por 2 meses depois do primeiro ataque apoplético espontâneo ou sacrificados em 5 meses para estudar a potencial correlação  
20 entre a extensão e a localização da lesão cerebral e a ocorrência de e/ou latência para ataques apopléticos espontâneos. A segunda será realizar um seguimento de um ano da ocorrência de ataque apoplético em um grupo de ratos para estudar se ou não os animais que foram declarados "não-epilépticos" em 5 meses continuarão livres de ataques apopléticos.

25 Os resultados do presente estudo mostra que um tratamento com TC iniciando em 1 h depois do início do estado epiléptico induzido por Li-pil tem propriedades neuroprotetivas na camada de células piramidais CA1 do hipocampo, e em todas as camadas do córtex entorrinal e piriforme ventral e dorsal. TC protege também núcleos da amígdala e tálamo. No entanto, TC não é protetor na dose de 30 mg/kg, exceto em CA1, um núcleos  
30 da amígdala e um talâmico. Na dose de 60 mg/kg, a camada II do córtex piriforme dorsal e um segundo núcleo da amígdala também são protegidos.

A 90 e 120 mg/kg, o fármaco protege a maior parte das regiões cerebrais estudadas, exceto CA3 hipocampal e o hilo do giro dentado. As duas últimas estruturas mais o núcleo talâmico dorsolateral ventral dorsal são as únicas regiões onde o número de neurônios permanece significativamente diferente dos controles na dose de 120 mg/kg TC. A partir destes dados, as propriedades extremamente poderosas de neuroproteção de TC aparecem claramente. A molécula parece prevenir a morte neuronal na maioria das regiões pertencentes ao circuito da epilepsia límbica induzida por Li-pilo, isto é, o hipocampo, tálamo, amígdala e córtices parahipocámpais. Estas são todas as regiões nas quais nós detectamos sinal de MRI no curso da epileptogênese em ratos tratados com Li-pilo (Roch et al., 2002a). As duas únicas regiões que não são protegidas eficazmente por TC são camada de células piramidais CA3 e o hilo do giro dentado. A última região sofre lesão celular rápida e massiva (André et al., 2001; Roch et al., 2002a) e nenhuma das neuroproteções que nós usamos nos estudos anteriores foram capazes de proteger esta estrutura. Nós também, com base em estudos anteriores, identificamos esta estrutura como uma área chave na iniciação e na manutenção de ataques epiléticos no modelo Li-pilo (Dubé et al., 2000). Obviamente, os presentes dados demonstram que a epileptogênese pode ser prevenida muito embora a lesão permaneça bastante acentuada nesta área. Contagem de células de longo termo sobre o grupo de animais que foram registrados em vídeo será capaz de mostrar se ou não a extensão da lesão nesta região é crucial para epileptogênese neste modelo.

O tratamento não afetou a latência para o primeiro ataque apoplético espontâneo na dose de 30 mg/kg. Nas 3 doses superiores, uma percentagem de animais desenvolveu epilepsia tão rápido quanto os ratos DZP ou TC30 mas a importância relativa deste subgrupo foi inversamente relacionada com a dose de TC usada. Outro subgrupo, de tamanho constante (2 a 4 animais por grupo) desenvolveu epilepsia depois de uma latência 4 a 6 vezes mais longa enquanto as duas maiores doses do fármaco, 4 a 5 ratos não tinham se tornado epiléticos depois de 5 meses, isto é, cerca de 10 vezes a duração da latência curta e 2 a 3 vezes a da latência longa. Este

atraso na ocorrência de epilepsia pode se correlacionar com o número de neurônios protegidos nos córtices basais nos animais. Esta hipótese se baseia no fato de que observou-se alguma heterogeneidade na extensão de neuroproteção nos córtices basais dos animais submetidos a contagem neuronal de curto termo em 14 dias depois de estado epiléptico. No entanto, no momento, não realizou-se contagem neuronal nos animais usados para o estudo de epileptogênese e portanto, não pode ser tirada nenhuma conclusão sobre uma potencial relação entre o número de neurônios sobreviventes nos córtices basais e no índice ou mesmo na ocorrência de epileptogênese.

Os dados obtidos no presente estudo estão de acordo com o estudo anterior deste grupo que reporta que a dose de 60 mg/kg de TC protegeu o hipocampo e os córtices basais contra lesão neuronal e retardou a ocorrência de ataques apopléticos recorrentes (vide relatório anterior, 2002). Os dados confirmam que a proteção dos córtices basais pode ser um fator-chave na indução de um efeito modificador de doença no modelo de epilepsia por lítio-pilocarpina. O papel-chave dos córtices basais como iniciadores do processo epiléptico foi previamente demonstrado por nosso grupo no modelo de lítio-pilocarpina (André et al., 2003; Roch et al., 2002a, b).

Em conclusão, este estudo mostra que o composto de teste (TC) tem efeitos antiepileptogênicos muito promissores.

#### Referências para o Exemplo 2

André V, Marescaux C, Nehlig A, Fritschy JM (2001) Alterations of the hippocampal GABAergic system contribute to the development of spontaneous recurrent seizures in the lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Hippocampus* 11:452-468.

- André V, Rigoulot MA, Koning E, Ferrandon A, Nehlig A (2003) Long-term pregabalin treatment protects basal cortices and delays the occurrence of spontaneous seizures in the lithium-pilocarpine model in the rat. *Epilepsia* 44:893-903.
- Cavaleiro EA (1995) The pilocarpine model of epilepsy. *Ital J Neurol Sci* 16:33-37.
- Dubé C, Marescaux C, Nehlig A (2000) A metabolic and neuropathologi-

cal approach to the understanding of plastic changes occurring in the immature and adult rat brain during lithium-pilocarpine induced epileptogenesis. *Epilepsia* 41(Suppl 6):S36-S43.

- 5     ▪ Dubé C, Boyet S, Marescaux C, Nehlig A (2001) Relationship between neuronal loss and interictal glucose metabolism during the chronic phase of the lithium-pilocarpine model of epilepsy in the immature and adult rat. *Exp Neurol* 167:227-241.
- 10    ▪ Paxinos G, Watson C (1986) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 2nd ed. Academic Press, San Diego.
- 10    ▪ Roch C, Leroy C, Nehlig A, Namer IJ (2002a) Contribution of magnetic resonance imaging to the study of the lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in adult rats. *Epilepsia* 43:325-335.
- 15    ▪ Roch C, Leroy C, Nehlig A, Namer IJ (2002b) Predictive value of cortical injury for the development of temporal lobe epilepsy in P21-day-old rats: a MRI approach using the lithium-pilocarpine model. *Epilepsia* 43:1129-1136.
- 15    ▪ Turski L, Ikonomidou C, Turski WA, Bortolotto ZA, Cavalheiro EA (1989) Review: Cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizures induced by pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy. *Synapse* 3:154-171.
- 20

#### Referências citadas

Todas as referências citadas aqui são incorporadas aqui, por meio de referência em sua totalidade e para todos os fins na mesma extensão como se cada publicação ou patente ou requerimento de patente individual fosse específica e individualmente indicada para ser incorporada por meio de referência em sua totalidade para todos os fins.

A discussão de referências aqui é pretendida meramente para resumir as assertivas feitas por seus autores e não é feita admissão de que qualquer referência constitua técnica anterior. As requerentes se reservam o direito de testar a precisão e a pertinência das referências citadas.

A presente invenção não deve ser limitada em termos das modalidades particulares descritas neste pedido de patente, as quais são pre-

tendidas como ilustrações únicas de aspectos individuais da invenção. Muitas modificações e variações desta invenção podem ser feitas sem se afastar de seu espírito e âmbito, conforme será evidente para os versados na técnica. Métodos e equipamentos funcionalmente equivalentes dentro do

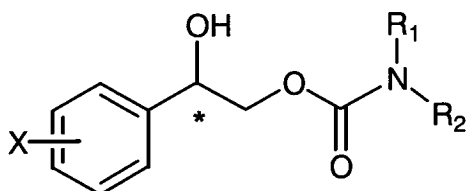
5 âmbito da invenção, além daqueles enumerados aqui serão evidentes para os versados na técnica a partir da descrição precedente e desenhos anexados. As modificações e variações referidas são pretendidas para incorrerem dentro do âmbito das reivindicações anexadas. A presente invenção deve ser limitada somente pelos termos das reivindicações anexadas, junto com o

10 pleno âmbito de equivalentes aos quais as reivindicações referidas são intituladas.

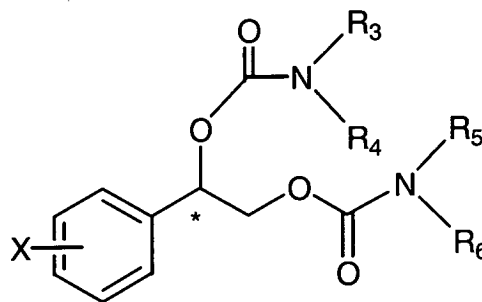
---

## REIVINDICAÇÕES

1. Uso de um composto, ou um sal, ou éster farmacologicamente aceitável do mesmo, selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (I) e Fórmula (II):



Fórmula (I)



Fórmula (II)

5 em que

fenila é substituída em X com de um a cinco átomos de halogênio selecionados entre o grupo consistindo em flúor, cloro, bromo e iodo; e,

10  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$  e  $R_6$  são selecionados de modo independente entre o grupo consistindo em hidrogênio e  $C_1$ - $C_4$  alquila; em que  $C_1$ - $C_4$  alquila é opcionalmente substituída com fenila (em que fenila é opcionalmente substituída com substituintes selecionados de modo independente entre o grupo consistindo em halogênio,  $C_1$ - $C_4$  alquila,  $C_1$ - $C_4$  alcóxi, amino, nitro e ciano),

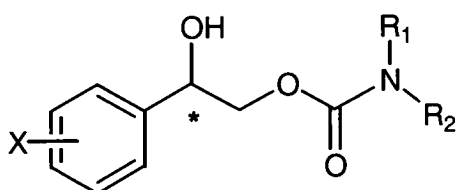
15 caracterizado pelo fato de que é para a preparação de uma composição farmacêutica para tratar epileptogênese em um paciente que necessite do mesmo.

2. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que X é cloro.

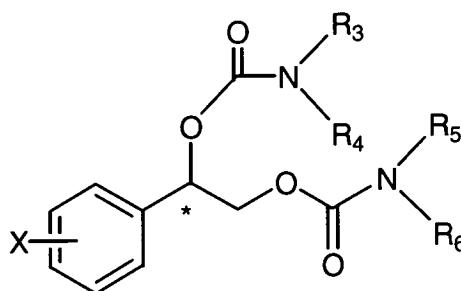
20 3. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que X é substituído na posição orto do anel fenila.

4. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$  e  $R_6$  são selecionados de hidrogênio.

25 5. Uso de um enantiômero, ou um sal, ou éster farmacologicamente aceitável do mesmo, selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (I) e Fórmula (II), ou mistura enantiomérica em que predomine um enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (I) e Fórmula (II):



Fórmula (I)



Fórmula (II)

em que

fenila é substituída em X com de um a cinco átomos de halogênio selecionados entre o grupo consistindo em flúor, cloro, bromo e iodo; e,

5 R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> e R<sub>6</sub> são selecionados de modo independente entre o grupo consistindo em hidrogênio e C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila; em que C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila é opcionalmente substituída com fenila (em que fenila é opcionalmente substituída com substituintes selecionados de modo independente entre o grupo consistindo em halogênio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcóxi, amino, nitro e ciano),

10 caracterizado pelo fato de que é para a preparação de uma composição farmacêutica para tratar epileptogênese em um paciente que necessite do mesmo.

6. Uso de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que X é cloro.

15 7. Uso de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que X é substituído na posição orto do anel fenila.

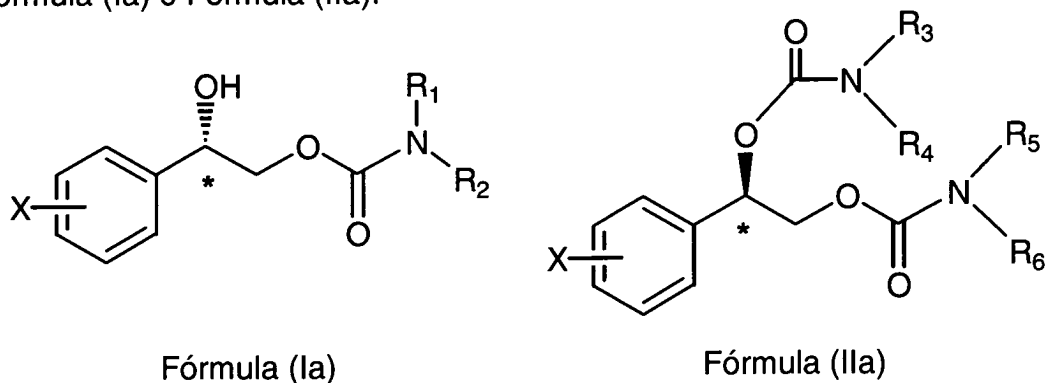
8. Uso de acordo com a reivindicação 5; caracterizado pelo fato de que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> e R<sub>6</sub> são selecionados de hidrogênio.

9. Uso de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que um enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (I) e Fórmula (II) predomina na extensão de cerca de 90% ou mais.

10. Uso de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que um enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (I) e Fórmula (II) predomina na extensão de cerca de 98% ou mais.

25 11. Uso de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que o enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (I)

e Fórmula (II) é um enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (Ia) e Fórmula (IIa):



em que

- fenila é substituída em X com de um a cinco átomos de halogênio selecionados entre o grupo consistindo em flúor, cloro, bromo e iodo; e,
- 5  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$  e  $R_6$  são selecionados de modo independente entre o grupo consistindo em hidrogênio e  $C_1$ - $C_4$  alquila; em que  $C_1$ - $C_4$  alquila é opcionalmente substituída com fenila (em que fenila é opcionalmente substituída com substituintes selecionados de modo independente entre o
- 10 grupo consistindo em halogênio,  $C_1$ - $C_4$  alquila,  $C_1$ - $C_4$  alcóxi, amino, nitro e ciano).

12. Uso de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que X é cloro.

13. Uso de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo
- 15 fato de que X é substituído na posição orto do anel fenila.

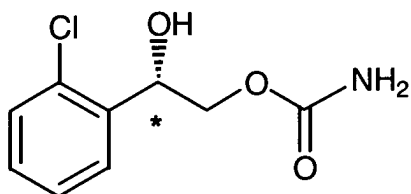
14. Uso de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$  e  $R_6$  são selecionados de hidrogênio.

15. Uso de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que um enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (Ia) e Fórmula (IIa) predomina na extensão de cerca de 90% ou mais.
- 20

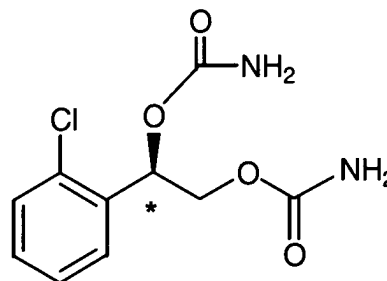
16. Uso de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que um enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (Ia) e Fórmula (IIa) predomina na extensão de cerca de 98% ou mais.

17. Uso de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato
- 25 de que o enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (I) e Fórmula (II) é um enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em

Fórmula (Ib) e Fórmula (IIb), ou uma forma de sal ou éster farmacologicamente aceitável do mesmo:



Fórmula (Ib)



Fórmula (IIb)

18. Uso de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que um enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (Ib) e Fórmula (IIb) predomina na extensão de cerca de 90% ou mais.

19. Uso de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que um enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (Ib) e Fórmula (IIb) predomina na extensão de cerca de 98% ou mais.

20. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 5, caracterizado pelo fato de que o(s) fator(es) predisponente(s) tornando o paciente com necessidade de tratamento com um fármaco antiepiléptogênicos (um AEGD) são selecionados entre o grupo consistindo em: lesão ou trauma de qualquer tipo do sistema nervoso central (CNS); infecções do sistema nervoso central; anoxia; acidente vascular cerebral (AVCs); doenças auto-imunes afetando o sistema nervoso central, por exemplo, lúpus; toco traumatismos, por exemplo, asfixia perinatal; parada cardíaca; procedimentos cirúrgicos vasculares terapêuticos ou de diagnóstico, por exemplo, endarterectomia da carótida ou angiografia cerebral; trauma da medula espinhal; hipotensão; lesão do sistema nervoso central por êmbolos, hiper ou hipoperfusão; hipoxia; predisposição genética conhecida a distúrbios que se sabe que respondem a AEGDs; lesões ocupando o espaço do sistema nervoso central; tumores cerebrais, por exemplo, glioblastomas; sangramento ou hemorragia dentro do ou circundando o sistema nervoso central, por exemplo, sangramentos intracerebrais ou hematomas subdurais; edema cerebral; convulsões febris; hipertermia; exposição a agentes tóxicos ou venenosos; intoxicação ou retirada de drogas, por exemplo cocaína ou álcool; histórico familiar de; distúrbios

de ataques ou um ataque relacionado com epilepsia como fenômeno neurológico ou distúrbio relacionado com ataque, histórico de estado epilético; tratamento corrente com medicações que reduzem o princípio do ataque, por exemplo, carbonato de lítio, torazina ou clozapina; evidência por marcadores ou biomarcadores substitutos que o paciente necessita de tratamento com um fármaco antiepiléptogênicos, por exemplo varredura por MRI apresentando esclerose hipocampal, níveis séricos elevados de produtos de degradação neuronal, níveis elevados de fator neurotrófico ciliar (CNTF) ou um EEG sugestivo de um distúrbio de ataque ou um ataque relacionado com epilepsia como fenômeno neurológico ou um distúrbio relacionado com ataque análogo.

21. Uso de acordo com a reivindicação 20, caracterizado pelo fato de que o(s) fator(es) predisponente(s) tornando o paciente com necessidade de tratamento com um fármaco antiepiléptogênicos (um AEGD) são selecionados entre o grupo consistindo em: trauma de cabeça fechada ou penetrante; derrame ou outro acidente vascular cerebral (AVC); estado epilético e lesões ocupando o espaço do sistema nervoso central.

22. Uso de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que o(s) fator(es) predisponente(s) referido(s) é (são) trauma de cabeça fechado ou penetrante.

23. Uso de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que o(s) fator(es) predisponente(s) referido(s) é (são) derrame ou outro acidente vascular cerebral (AVC).

24. Uso de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que o referido fator predisponente é estado epilético.

25. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 5, caracterizado pelo fato de que o referido composto (ou enantiômero), ou um sal, ou éster farmacologicamente aceitável do mesmo, é administrado em administração de combinação com um ou mais outros compostos ou agentes terapêuticos.

26. Uso de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que o referido um ou mais outros compostos ou agentes terapêuticos são selecionados entre o grupo consistindo em compostos que têm uma ou

mais das seguintes propriedades: atividade antioxidante; antagonista do receptor NMDA; capacidade para aumentar a inibição de GABA endógena; atividade inibitória de NO sintase; capacidade de ligação de ferro, por exemplo, um quelador de ferro; capacidade de ligação de cálcio, por exemplo, um  
5 quelador de Ca (II); capacidade de ligação de zinco, por exemplo, um quelador de Zn (II); a capacidade para bloquear canais iônicos de sódio ou cálcio; a capacidade para abrir canais iônicos de potássio ou cloreto; de tal modo que a epileptogênese é inibida no paciente.

27. Uso de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo  
10 fato de que o referido um ou mais compostos podem ser, além disso, selecionados entre o grupo consistindo em fármacos antiepilépticos (AEDs).

28. Uso de acordo com a reivindicação 27, caracterizado pelo fato de que o referido fármaco antiepiléptico (AED) é selecionado entre o grupo consistindo em; carbamazepina, clobazam, clonazepam, etossuximida,  
15 felbamato, gabapentina, lamotigina, levetiracetam, oxcarbazepina, fenobarbital, fenitoína, pregabalina, primidona, retigabina, talampanel, tiagabina, topiramato, valproato, vigabatrina, zonisamida, benzodiazepinas, barbituratos ou hipnóticos sedativos.

29. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 5, caracterizado pelo  
20 fato de que a quantidade terapêuticamente eficaz é a partir de cerca de 0,01 mg/Kg/dose a cerca de 100 mg/Kg/dose.

30. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 5, caracterizado pelo fato de que o referido paciente não desenvolveu epilepsia por ocasião da referida administração.

25 31. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 5, caracterizado pelo fato de que o referido paciente está em risco de desenvolver epilepsia por ocasião da referida administração.

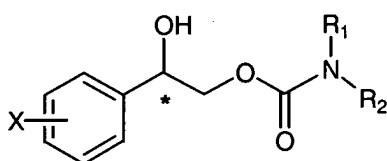
32. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 5, caracterizado pelo fato de que o referido paciente desenvolveu epilepsia por ocasião da referida  
30 administração.

33. Uso de acordo com a reivindicação 1 ou 5, caracterizado pelo fato de que a referida quantidade terapêutica é progressivamente reduzida

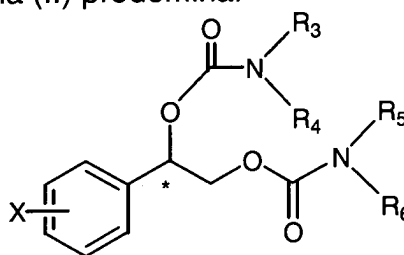
à medida que o tratamento do processo epileptogênico progride no referido paciente.

34. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 25 a 28, caracterizado pelo fato de que a quantidade do referido um ou mais outros compostos ou agentes terapêuticos administrados em combinação com o referido composto (ou enantiômero), ou um sal, ou éster farmacologicamente aceitável do mesmo, é progressivamente reduzida à medida que o tratamento do processo epileptogênico progride no referido paciente.

35. Composição farmacêutica para tratar epileptogênese, caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade farmacologicamente eficaz de um enantiômero, ou um sal, ou éster farmacologicamente aceitável do mesmo, selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (I) e Fórmula (II), ou mistura enantiomérica em que um enantiômero selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (I) e Fórmula (II) predomina:



Fórmula (I)



Fórmula (II)

em que

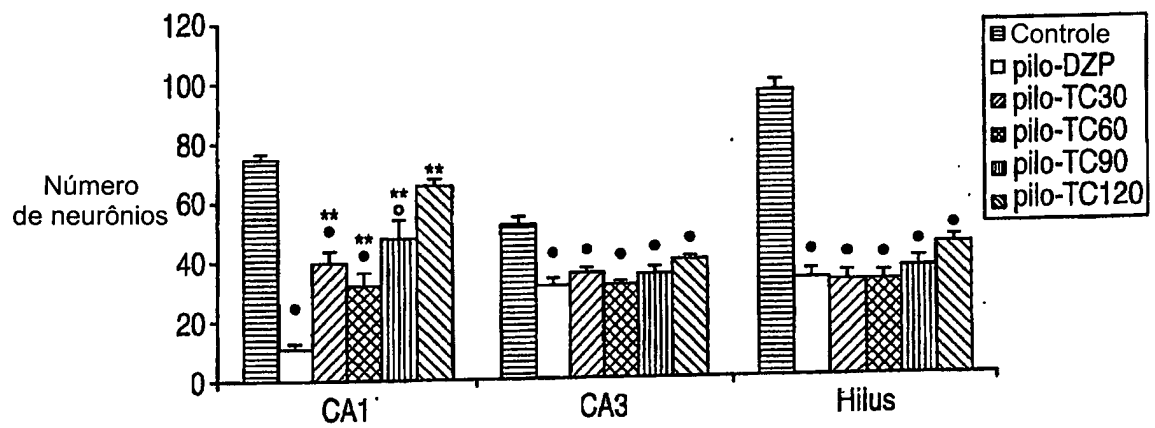
fenila é substituída em X com de um a cinco átomos de halogênio selecionados entre o grupo consistindo em flúor, cloro, bromo e iodo; e,

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> e R<sub>6</sub> são selecionados de modo independente entre o grupo consistindo em hidrogênio e C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila; em que C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila é opcionalmente substituída com fenila (em que fenila é opcionalmente substituída com substituintes selecionados de modo independente entre o grupo consistindo em halogênio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcóxi, amino, nitro e ciano) e um veículo ou excipiente farmacologicamente aceitável.

36. Kit, caracterizado pelo fato de que compreende formas de dosagens terapêuticamente eficazes de uma composição farmacêutica como definida na reivindicação 35, em uma embalagem ou recipiente apropriado, junto com informações ou instruções para uso apropriado do mesmo.

**FIG. 1**

## Hipocampo

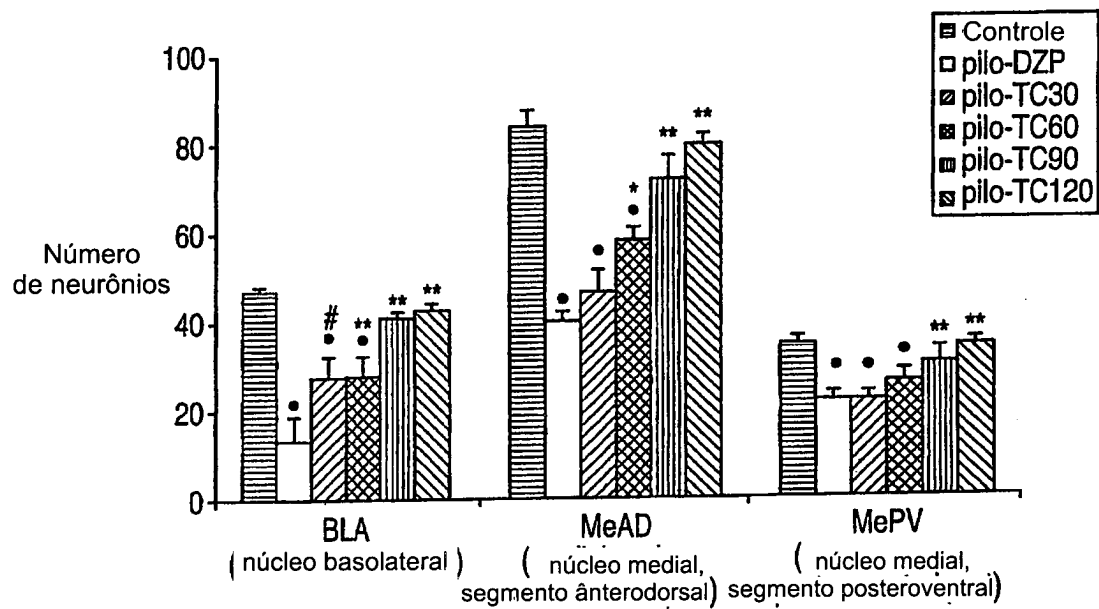


◦  $p < 0.05$ , •  $p < 0.01$ , diferença estatisticamente significante entre o pilo-tc e o controle li-salino em ratos

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , diferença estatisticamente significante entre o pilo-tc e o pilo-dzp em ratos

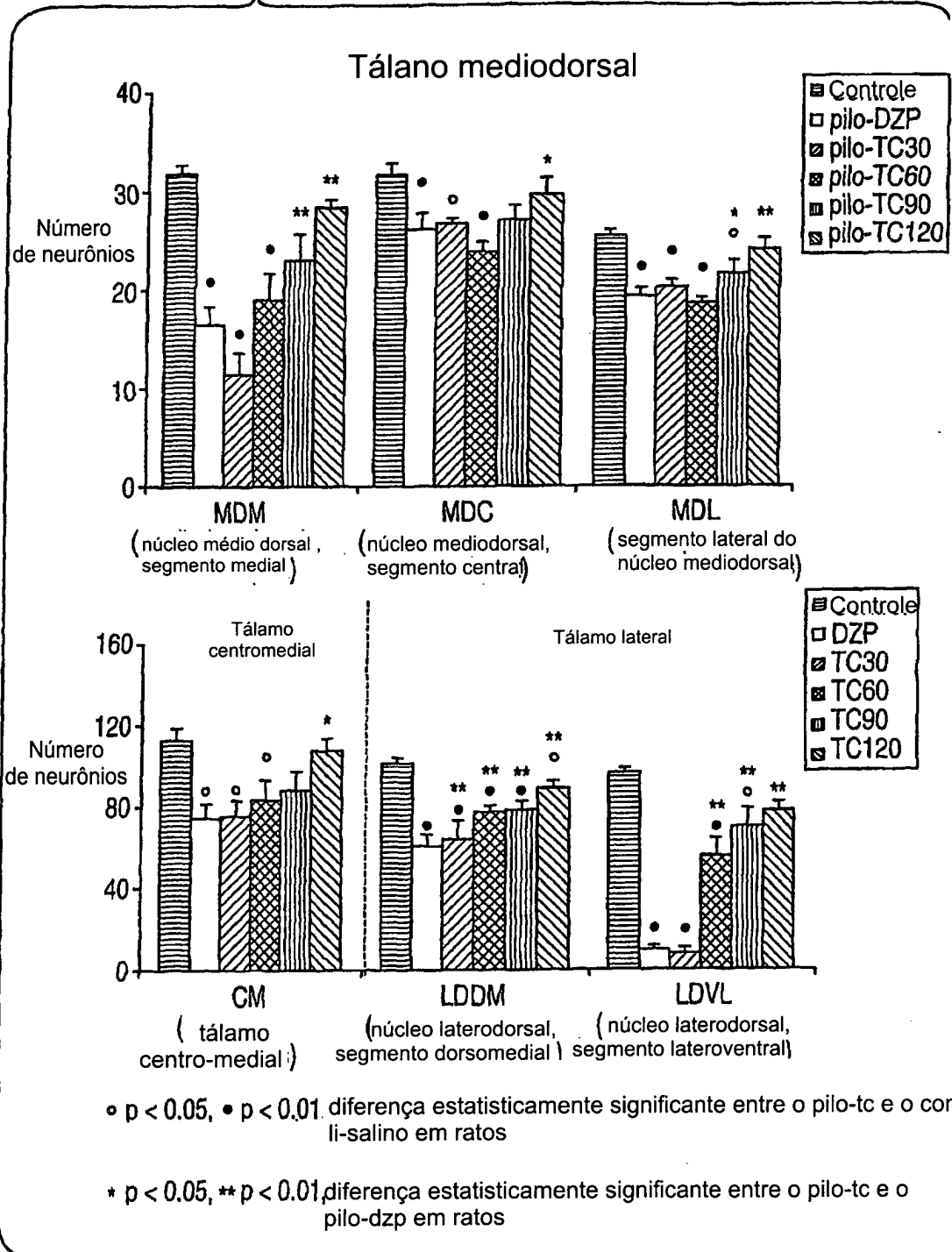
**FIG. 2**

## Amígdala

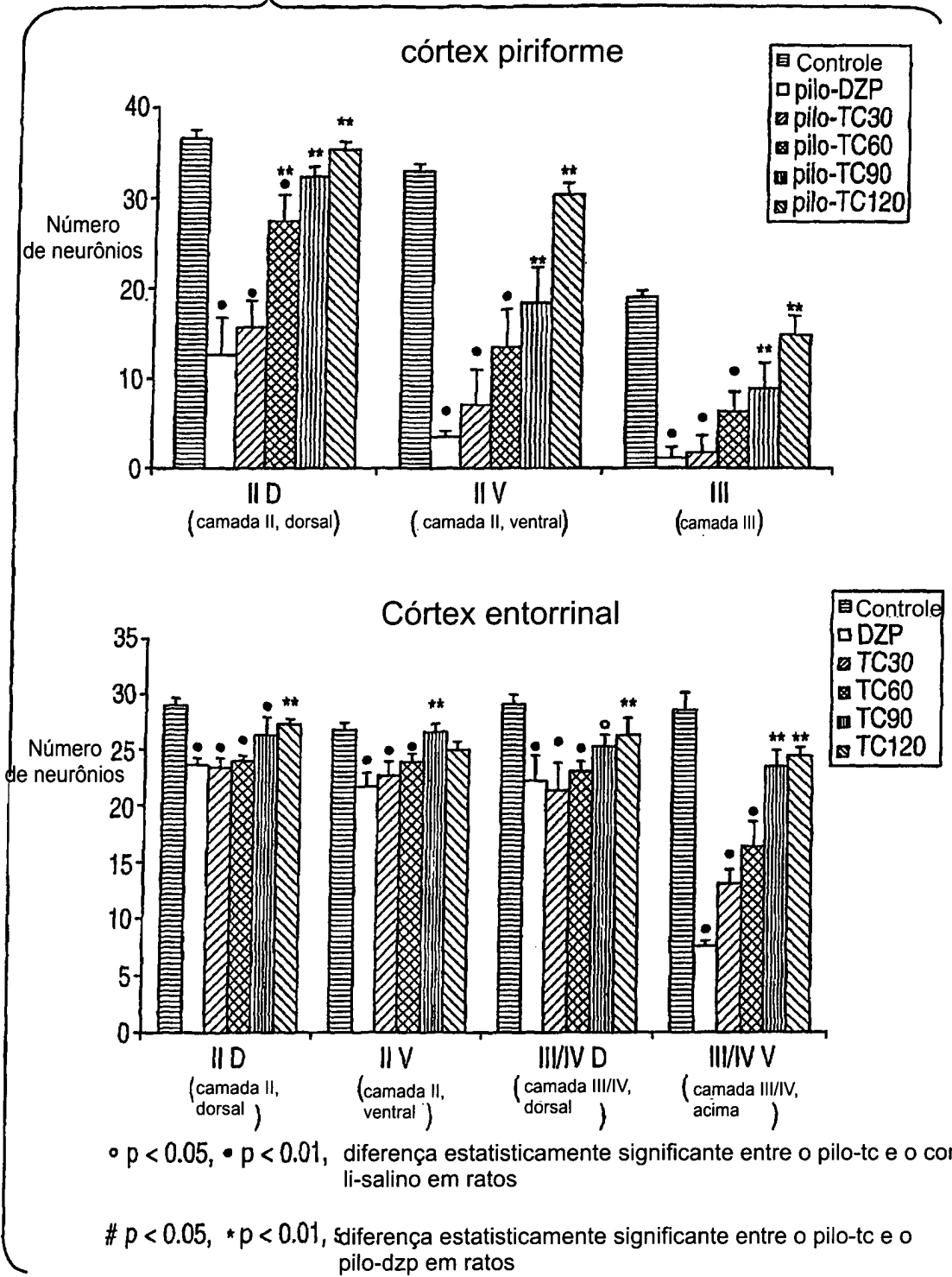


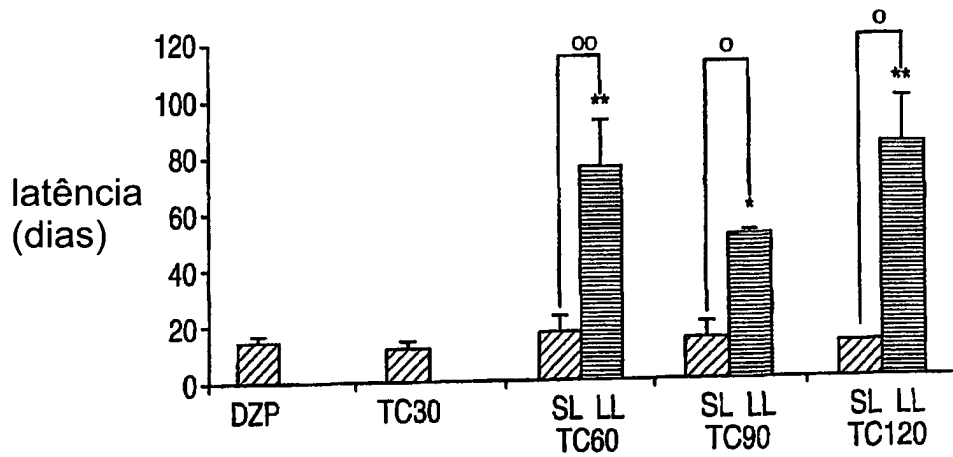
◦  $p < 0.05$ . •  $p < 0.01$  diferença estatisticamente significativa entre o pilo-tc e o controle li-salino em ratos

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  diferença estatisticamente significativa entre o pilo-tc e o pilo-dzp em ratos

**FIG. 3**

**FIG. 4**



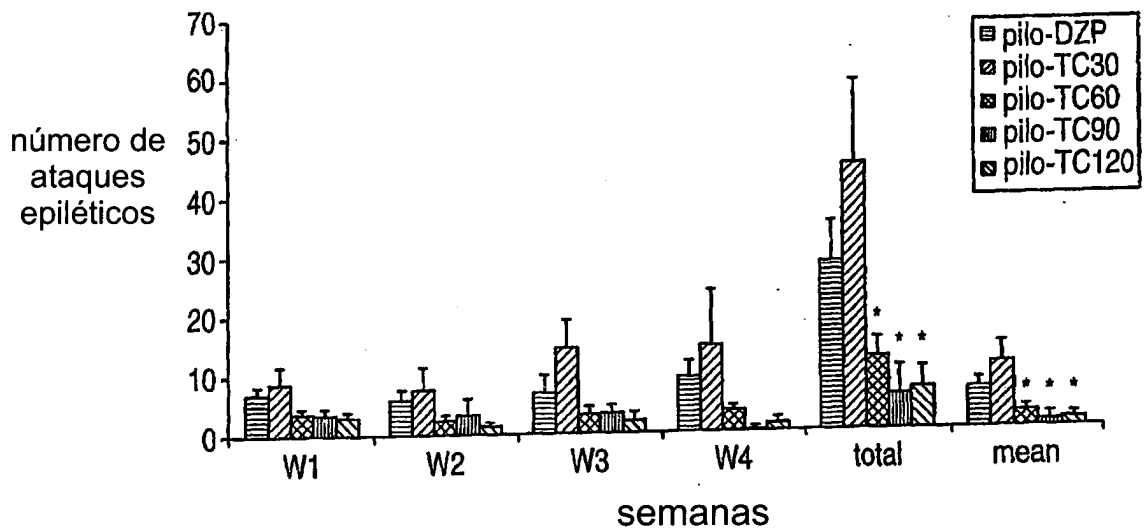
**FIG. 5**

SL: curta latência  
 LL: longa latência

\*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ , diferença estatisticamente significantes se comparado ao grupo pilo-dzp  
 oo  $p < 0.01$ , o  $p < 0.05$ , diferença estatisticamente significantes se comparado ao grupo SL

**FIG. 6**

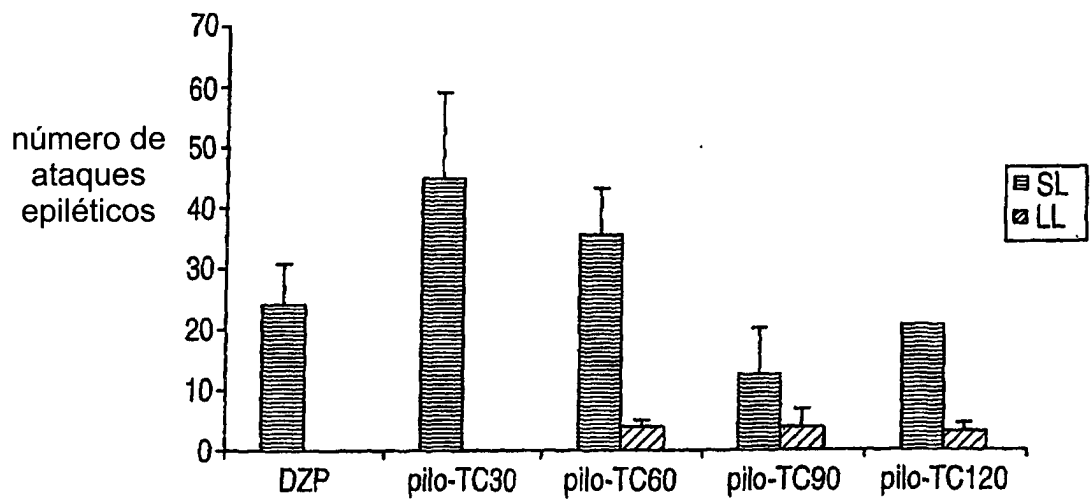
freqüência de ataques epiléticos espontâneos



\*  $p < 0.05$ , diferença estatisticamente significativa se comparado ao grupo pilo-tc30 (depois disto, teste-t de dunnet)

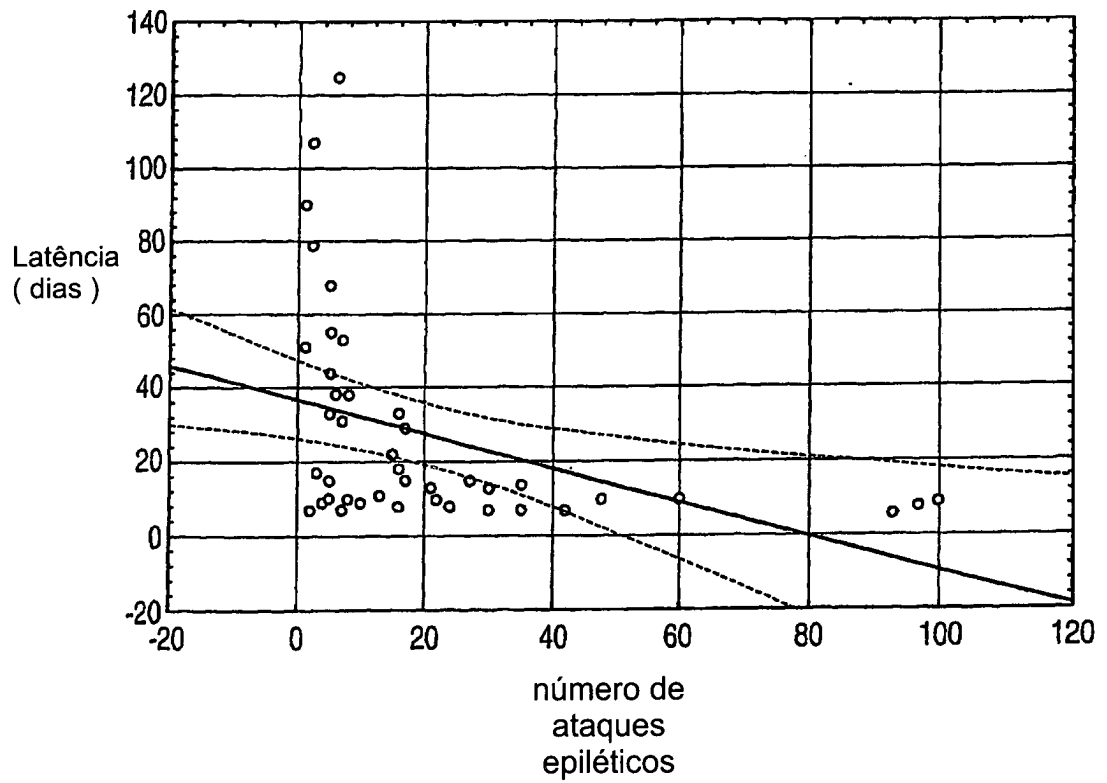
relação entre a latência e o número de ataques epiléticos

**FIG. 7**



correlação entre a latência e o número de ataques epiléticos

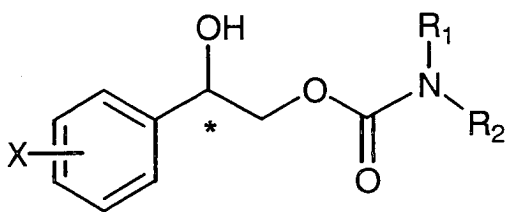
**FIG. 8**



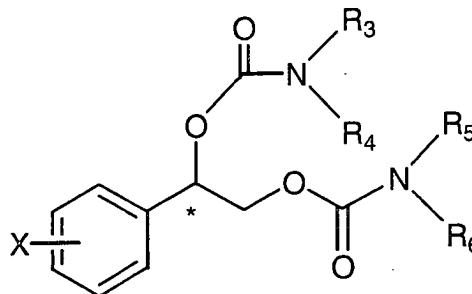
**RESUMO**

Patente de Invenção: **"USO DE COMPOSTO OU DE ENANTIÔMERO OU SAL OU ÉSTER FARMACEUTICAMENTE ACEITÁVEL DO MESMO PARA TRATAR EPILEPTOGÊNESE, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA E KIT"**.

5 A presente invenção refere-se a usos para prevenir, tratar, reverter, inibir, ou interromper a epileptogênese em um sujeito compreendendo administrar ao sujeito que necessite do mesmo uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto selecionado entre o grupo consistindo em Fórmula (I) e Fórmula (II),



Fórmula (I)



Fórmula (II)

10 ou um sal ou éster farmacêuticamente aceitável do mesmo:

em que fenila é substituída em X com um a cinco átomos de halogênio selecionados entre o grupo consistindo em flúor, cloro, bromo e iodo; e, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> e R<sub>6</sub> são selecionados de modo independente entre o grupo consistindo em hidrogênio e C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila; em que C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila é opcionalmente substituída com fenila (em que fenila é opcionalmente substituída com substituintes selecionados de modo independente entre o grupo consistindo em halogênio, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquila, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcóxi, amino, nitro e ciano).

15